

**Untersuchungen zur
Thrombozytenfunktion bei Koronarpatienten
und Wirkungsvergleich verschiedener
Thrombozytenaggregationshemmer**

Reinhard Lorenz

1981

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität
München

Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn

Untersuchungen zur Thrombozytenfunktion bei Koronarpatienten
und Wirkungsvergleich verschiedener Thrombozytenaggregations-
hemmer

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Reinhard Lorenz
aus
Landsberg
Jahr
1981

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft
We 681/6-4

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter: Prof. Dr. P. C. Weber

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 8.10.1981



Verwendete Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AS	Arachidonsäure, C 20:4
ASS, ASA	Azetylsalizylsäure
C 20:3	Di-homo- γ - Linolensäure, Stammfettsäure der Prostaglandine der 1er Reihe
C 20:4	Arachidonsäure, Stammfettsäure der Prosta- glandine der 2er Reihe
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
D	Dipyridamol
6-Keto-PGF _{1a}	6-Keto-Prostaglandin-F _{1alpha} ; Metabolit von Prostazyklin
KHE	Gruppe der Patienten mit koronarer Herz- erkrankung
N ₁	junges Normalkollektiv
N ₂	altersangepaßtes Normalkollektiv
PGs	Prostaglandine
PGD ₁ , D ₂ , E ₁ ...	klassische Prostaglandine
PGI ₂	Prostazyklin
S	Sulfinpyrazon
TRP	Thrombozyten-reiches Plasma
TXA ₂	Thromboxan A ₂
TXB ₂	Thromboxan B ₂ , Metabolit von Thromboxan A ₂

Inhaltsverzeichnis

<u>Einführung und Stand der Wissenschaft</u>	Seite
Einleitung	1
Pathologische Definition	4
Lipidtheorie	5
Thrombozyten und atherosklerotische Gefäß- erkrankung	7
Thrombozyten und akute Exazerbationen einer atherosklerotischen Gefäßerkrankung	8
Thrombozytenaggregationshemmer und Gefäß- erkrankungen	9
Thrombozytenfunktion	10
Thrombozyten und Prostaglandine	12
<u>Eigene Untersuchungen</u>	
Problemstellung	19
Methoden	
Patienten und Probanden	20
Probengewinnung und Analysen	21
Ergebnisse	
Untersuchungen an Koronarpatienten und Kontrollgruppen	22
Untersuchungen mit Aggregationshemmern an Normalpersonen	30
<u>Diskussion</u>	
Untersuchungen an Patienten	38
Untersuchungen mit Aggregationshemmern	44
<u>Zusammenfassung</u>	48
<u>Literaturverzeichnis</u>	I-XVI

Untersuchungen zur Thrombozytenfunktion bei Koronarpatienten und Wirkungsvergleich verschiedener Aggregationshemmer

Einleitung

In den westlichen Industrieländern führt die Gruppe der Herz-Kreislaufkrankungen die Todesursachenstatistik an (58). Ihre Behandlung, wenn möglich Verhütung, stellt somit eine der gegenwärtig drängendsten Herausforderungen der Medizin zumindest in diesen Ländern dar.

Gemessen an den Erfolgen des letzten Jahrhunderts über die Infektionskrankheiten, der damals häufigsten Todesursache, stecken das Ursachenverständnis und die kausalen Behandlungs- und Präventionsmöglichkeiten dieser modernen "zivilisatorischen Seuchen" noch vielfach in den Anfängen. Dennoch sollten etwa die eindrucksvollen und mittlerweile gut gesicherten Ergebnisse ermutigen, die bei der Bekämpfung des Hochdrucks und seiner Folgekrankheiten erzielt wurden (67), obwohl die letztendliche Aufklärung der Pathogenese (noch?) aussteht und "nur" eine symptomatische Therapie durchgeführt werden kann.

Aus mehreren Gründen ist der Kenntnisstand über Ätiologie und Interventionsmöglichkeiten bei der atherothrombotischen Gefäßerkrankung mit ihren klinischen Hauptmanifestationen an Herz, Gehirn und Peripherie demgegenüber noch unbefriedigend:

Der jahrzehntelange, klinisch stumme Verlauf der "Arteriosklerose" erschwert die Erfassung pathogenetisch wahrscheinlich aufschlußreicherer Frühformen und faßbare Abweichungen bei den einfacher zugänglichen Spätformen könnten sowohl Folge wie auch Ursache der Gefäßerkrankung sein. Die hohe Prävalenz subklinischer Formen erschwert die zuverlässige Abgrenzung "gesunder" Kontrollgruppen. Im Unterschied etwa zur Hypertonie ist ein eindeutiger und einfach erfaßbarer pathologischer Parameter als therapeutischer Ansatzpunkt nicht natürlich vorgegeben. Die letztlich entscheidende Überprüfung pathogenetischer und therapeutischer Hypothesen ist nur in umfangreichen, langwierigen klinischen Studien möglich, für die dann meist nur

Kollektive mit bewiesenermaßen schon weit fortgeschrittener Gefäßerkrankung zur Verfügung stehen.

Trotz aller dieser Schwierigkeiten wurden in den letzten Jahrzehnten eine Fülle von Untersuchungen dem Problem der atherothrombotischen Gefäßerkrankung, insbesondere der koronaren Herzerkrankung, gewidmet: Neben der Identifikation von Risikoindikatoren für die spätere Entwicklung einer klinisch manifesten Gefäßerkrankung (74) mit dem Ziel der Intervention an diesen Parametern unter der Vorstellung ihrer Wirkung als Risikofaktoren (94, 149, 35), dem vorwiegend in der Sekundärprophylaxe nach Myokardinfarkt eingesetzten Prinzip der β -Blockade (156), der Anticoagulation (64), sowie chirurgischen Maßnahmen (117), wurde in den letzten Jahren zunehmend ein weiterer therapeutischer Angriffspunkt gewählt: Auf Grund von Hinweisen auf eine Beteiligung von Thrombozyten an akuten Exazerbationen, später auch auf Grund einer vermuteten Beteiligung der Thrombozyten an der chronischen Entstehung der atherothrombotischen Gefäßerkrankungen, wurden zahlreiche Studien mit Substanzen durchgeführt, deren Wirksamkeit von ihrer Beeinflussung der Thrombozytenfunktion erhofft wurde.

So wurde eine signifikante klinische Wirksamkeit in angemessenen Versuchen z.B. für 4 x 200 mg/d Sulfinpyrazon (S) nach Myokardinfarkt (145), 3 x 325 mg/d Azetylsalizylsäure (ASS) bei drohendem Insult (146), 160 mg/d ASS bei arteriovenösen Shunt-Thrombosen (61) und für 3 x 75 mg/d Dipyridamol (D) bei Embolien von künstlichen Klappen aus (142) behauptet. Ein positiver Trend wurde für 3 x 300 mg/d ASS nach Myokardinfarkt (38) berichtet. Dagegen mußte eine Verbesserung des klinischen Verlaufs z.B. für 2 x 500 mg/d ASS nach Myokardinfarkt (4), 3 x 300 mg/d ASS kombiniert mit 3 x 75 mg/d D bei aortokoronarem By-pass-Verschluss (113) und für 4 x 200 mg/d S bei drohendem Insult (146) verneint werden.

Natürlich können nicht alle Behandlungsschemata in allen Untergruppen und während aller Verlaufsstadien der atherothrombotischen Gefäßerkrankung klinisch geprüft werden. Deshalb ist ein

gezielter Entwurf zukünftiger Therapiestudien, die eine optimierte Antithrombozytenbehandlung erbringen sollen, nötig. Dieser sollte sich möglichst auf rationale Kriterien stützen, die auf einfacher zugänglichen Daten beruhen.

Glücklicherweise ermöglichten mehrere neuere grundlegende Erkenntnisse ein vertieftes Verständnis der Thrombozytenfunktion (56), der antithrombotischen Eigenschaft des Endothels (99), der möglichen Beteiligung der Plättchen an der Pathogenese der Arteriosklerose (120) und der Pharmakologie einiger Thrombozytenaggregationshemmer (136). Im Lichte dieses Konzepts steht zu befürchten, daß die herkömmlichen Dosierungen der Thrombozytenaggregationshemmer möglicherweise nicht optimal gewählt waren.

Patholog. Definition

Arteriosklerose (91) wurde 1958 von der WHO definiert als "eine variable Kombination von Intimaveränderungen der Arterien (im Unterschied zu Arteriolen) bestehend aus einer fokalen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlehydraten, Blut und Blutprodukten, Bindegewebe und Kalkablagerungen und verbunden mit gesundheitlichen Veränderungen" (157).

Im einzelnen werden unterschieden (121):

- I) Schon im Jugendalter weitverbreitet auftretende, gelblich, flache, glatte Läsionen, "Intimaödem und Lipidose", mikroskopisch gekennzeichnet durch fokale Anhäufung glatter Muskelzellen mit extra- und intrazellulären Fettablagerungen,
- II) weißlich erhabene "fibröse Plaques", bestehend aus Lipidhaltigen (vorwiegend Cholesterin) glatten Muskelzellen, extrazellulären Lipiden, Kollagen, elastischen Fasern und Proteoglykanen, die als fibröse Kappe ein tieferes Fett- und Debrisdepot überlagern,
- III) voll ausgebildete atheromatöse Plaques" mit zusätzlichen Zeichen der Einblutung, Kalzifizierung, Zellnekrose, wandständigen Thrombose oder Okklusion.

Über obligate oder potentielle Übergänge der einzelnen Formen im Sinne von Progression oder Regression besteht Uneinigkeit. Diese Bandbreite pathologisch faßbarer Gefäßwandveränderungen wird je nach Lokalisation, funktionell-hämodynamischen Folgen und akuten Komplikationen für das klinische Spektrum der atherothrombotischen Gefäßerkrankung verantwortlich gemacht. Daneben werden neuerdings wieder vermehrt lokalisierte, funktionelle Gefäßspasmen, vorwiegend am Koronarbett, auf dem Boden strukturell unauffälliger oder vorgeschädigter Gefäßwandabschnitte als Ursache akuter Manifestationen einer Minderperfusion des versorgten Gewebes diskutiert (93).

Die heute gängigen und best belegbaren Vorstellungen zur Entstehung der atherothrombotischen Gefäßerkrankung lassen sich weit zurückverfolgen.

Lipidtheorie

Vogel beschrieb die Lipideinlagerungen einschließlich doppelbrechender Cholesterinkristalle im atheromatösen Plaque (152), Virchow postulierte die Herkunft der Lipide im Plaque vom Plasmalipiden durch "Imbibition oder Insudation" (151), erleichtert durch eine Endothelschädigung jedwelter Art und gefolgt von einer überschießenden reparativen Reaktion der Gefäßwand (150). Marchand erweiterte das Konzept der selektiven Lipidimbibition mit Bildung von Lipidpools und bindegewebiger Reaktion (91). Erstmals gelang Ignatowski die Erzeugung atheroskleroseähnlicher Veränderungen im Tiermodell durch eine Eidotter-Fleisch-Diät (68), kurz darauf Anitschkow auch durch reine Cholesteringabe (3). Anitschkow bewies später auch als erster die Regression der Veränderungen nach Sistieren der atherogenen Diät (2).

In großen Querschnittsuntersuchungen wurde auch für den Menschen die Assoziation zwischen Nahrungsfett-, insbesondere Cholesterinaufnahme, Plasmalipidspiegeln und der jeweiligen Gruppeninzidenz für klinische Manifestationen einer atherothrombotischen Gefäßerkrankung bewiesen (75), ebenso wurde in prospektiven Längsschnitt-Untersuchungen Serumcholesterin (73) als Risikofaktor für eine Gefäßerkrankung identifiziert.

Das führte zur Formulierung der sog. "Lipidtheorie": Eine Senkung der Serumlipide (diätetisch oder medikamentös) sollte zur Herabsetzung der gefäßbedingten Morbidität und Mortalität führen. Außer in kleinen Studien an Hochrisikogruppen (32), wurde diese Theorie bisher nur einmal mit möglicherweise durch die Medikamenten-Toxizität bedingten, enttäuschenden Resultaten in einer primären Interventionsstudie getestet (23). In letzter Zeit wurden die einzelnen Fraktionen der Serumlipide differenzierter auf ihre prognostische Bedeutung untersucht, und insbesondere der protektive Effekt des HDL-Cholesterins erkannt (96).

Auf einige andere, meist weniger gut untermauerte Theorien zur Pathogenese der Arteriosklerose, die z.B. eine klonale Pro-

liferation der glatten Muskelzellen (6), hämodynamische Faktoren (144), intramurale kapilläre Blutungen (114), Lipophagen-Einwanderung (83) oder eine klonale Altersdegeneration der glatten Muskelzellen (92) in den Mittelpunkt stellen, soll im Rahmen dieser Arbeit nicht genauer eingegangen werden.

Thrombozyten und atherothrombotische Gefäßerkrankungen

Ebenfalls schon im 19. Jht. wurde die Entstehung arteriosklerotischer Plaques aus wandständigen Mikrothromben durch "Enkrustation" postuliert (119). Mit dem Nachweis der Endothelialisierung und damit deren Einbeziehung in die Gefäßwand wurde neues Interesse an diesem hypothetischen Mechanismus der Arteriosklerose-Entstehung geweckt (37), wobei zunehmend Plättchenthromben anstatt plasmatischer Gerinnsel in den Vordergrund rückten (121). Eine erhöhte Endothelpermeabilität durch aus aufgelagerten Plättchenthromben freigesetzte lytische Enzyme stellte Querverbindungen zur Lipid-Insudationstheorie her (107). Neuerdings wurde ein Plättchenfaktor nachgewiesen, der spezifisch die mitotische Aktivität der glatten Muskelzellen der Gefäßwand stimuliert und damit den typischen pathologisch-anatomisch Umbau zum Plaque initiieren kann (120). Das stimmt mit Beobachtungen an mehreren Tiermodellen von Arteriosklerose-Äquivalenten überein: Mechanisch (140) oder chemisch durch Homocystein (59) oder Cholesterin (120) induzierte Endothelschädigungen führen zur Proliferation intimaler glatter Muskelzellen, was durch Thrombozytopenie oder Vorbehandlung mit Thrombozytenaggregationshemmern (43, 104) verhindert werden kann. Bei Schweinen mit einem v. Willebrand's-ähnlichen Defekt kann experimentell nur schwer eine Arteriosklerose induziert werden (13). Plättchen bilden auf deendothelialisierter Intima einen Belag und werden ins Neoendothel eingebaut (78).

Wie in der Diskussion näher ausgeführt, wurden beim Menschen ebenfalls bei zahlreichen atherothrombotischen Krankheiten und fast allen bekannten Risikofaktoren für die Entwicklung einer Gefäßkrankheit in verschiedenen Testsystemen der Plättchenfunktion Abnormalitäten gefunden.

Weiter akzeptiert und zwingender belegbar als die Vorstellungen über eine Beteiligung der Thrombozyten an der chronischen Entstehung der Arteriosklerose, ist die Rolle von Plättchenaggregaten bei akuten Exazerbationen einer atheromatösen Gefäßerkrankung.

Thrombozyten und akute Exazerbationen einer atherosklerotischen Gefäßerkrankung

Ruptur eines atheromatösen Plaques (24) mit Exposition thrombogenen Materials (z.B. Kollagen), Entstehung eines frischen Appositionsthrombus und kritische Reduktion des Gefäßlumens scheint ein möglicher Mechanismus der Infarkt-Entstehung zu sein (118). Spontane Rekanalisation könnte erklären, wieso häufig autopsisch kein Thrombus mehr nachweisbar ist (48). Auch systemisch wurden spontane Plättchenaggregate (159), erhöhte Spiegel von Plättchen-spezifischen Proteinen wie Plättchenfaktor 4 (57) und β -Thromboglobulin (34) nach akutem Myocardinfarkt oder nach instabiler A.p. (138) gefunden und als Zeichen einer gesteigerten Plättchenaktivität gedeutet.

Für die Pathogenese von Koronarspasmen, die neuerdings wieder als mögliche Ursache von Myocardinfarkten akzeptiert werden, wurde ebenfalls ein Exzess von Plättchen-sezerniertem Thromboxan A_2 (86) oder ein relativer Mangel von koronarem Prostacyclin (65) diskutiert.

Auch viele Befunde an tierexperimentellen Infarktmodellen stützen eine Rolle der Thrombozyten: Das Aggregans ADP, (nicht aber das Plättchen-indifferente AMP) verursacht, intrakoronar gegeben, Myokardnekrosen (72), ebenso Stress (52) oder peripher gegebenes Adrenalin (51). Diese Nekrosen können durch Azetylsalizylsäure- oder Dipyridamol (50)- Vorbehandlung verhindert werden. Die Okklusion vorgeschädigter Gefäße kann durch Aggregationshemmer verhindert werden (42). Die Anzahl von Plättchenaggregaten in der Randzone, wie auch die Infarktgröße nach Koronarligatur lassen sich durch Vorbehandlung mit Aggregationshemmern vermindern (106).

Auch beim Menschen wurden nach plötzlichem Herztod, zahlreicher als nach anderen plötzlichen Todesursachen, intramyokardiale Plättchenaggregate gefunden (49).

Thrombozyten-Aggregationshemmer und Gefäßerkrankung

Anfang der 50er Jahre wurde eine nicht näher erklärbare retrospektiv deutlich niedrigere Prävalenz (4 statt erwarteter 31 %) von autoptisch gesicherten Myokardinfarkten bei Patienten mit rheumatoider Arthritis berichtet (22). Ebenfalls ein Einzelbericht, daß bei über 8000 älteren Patienten, denen undiskriminiert 300-600 mg/d Azetylsalizylsäure über Jahre verabreicht worden war, kein einziger Myokardinfarkt beobachtet wurde (26), führte zu einer großen retrospektiven Fallkontrollstudie: Patienten mit der Entlassungsdiagnose Myokardinfarkt gaben hochsignifikant seltener einen langjährigen, regelmäßigen Aspirinkonsum in der Anamnese an, als Kontrollpatienten mit anderen Entlassungsdiagnosen, zu deren Therapie Antiphlogistika nicht gehörten (12).

1956 wurde eine Verlängerung der Blutungszeit nach Aspirin-Medikation berichtet (5), 1967 die durch Aspirin verursachte Hemmung der Plättchenaggregation (Blockade der Release-Reaktion und der "zweiten Welle") auf Kollagen entdeckt (153) und die Verwendung von ASS als antithrombotisches Agens vorgeschlagen. Damit begann eine Entwicklung, die seither eine wesentliche Vertiefung des Verständnisses der Plättchenfunktion und ihrer pharmakologischen Beeinflussung brachte.

Thrombozytenfunktion

Ausgewiesen durch die Symptomatik bei Thrombopathien oder -penien ist die wohl dominierende Bedeutung der Thrombozyten in ihrer Mitwirkung an der physiologischen Hämostase (und ihrer pathologischen Entgleisung, der Thromboseentstehung) zu sehen.

Deskriptiv-morphologisch lassen sich im Dienste dieser Funktion die Adhäsion des Thrombozyten an die unphysiologische Oberfläche, Sphärenbildung, Pseudopodienextrusion und Zentralisierung der zytoplasmatischen Granula, die Rekrutierung weiterer, noch nicht adhärenter Thrombozyten zur Bildung räumlicher Aggregate, die Freisetzung des Granulainhalts, die Interaktion mit dem plasmatischen Gerinnungssystem und die aktive Thrombusretraktion unterscheiden (155).

Das Studium der dem zu Grunde liegenden biochemischen Mechanismen wurde gezwungenermaßen weitgehend ex vivo an vereinfachten Modellsystemen durchgeführt: Retention bei der Passage unphysiologischer Oberflächen, Messung der abnehmenden optischen Dichte im gerührten plättchenreichen Plasma durch Verklumpen der Plättchen, die Überlebenszeit ex vivo markierter reinjizierten Plättchen und die Analyse spezifisch vom Plättchen gebildeter Substanzen sind häufig gemessene Parameter zur Abschätzung der Adhäsion, Aggregation bzw. Synthese- und Release-Reaktion der Plättchen.

Die der Plättchenadhäsion zugrunde liegenden Mechanismen sind vergleichsweise noch wenig aufgeklärt, endogene Substanzen und Pharmaka, die die Plättchenaggregation fast vollständig hemmen, vermögen die Adhäsion meist nicht oder erst in viel höheren Konzentrationen zu unterdrücken.

Die Plättchenaggregation kann experimentell spezifisch (d.h. in niedrigen Konzentrationen, nicht aber mit höheren Konzentrationen strukturell eng verwandter Substanzen) mit so verschiedenen biologischen Substraten wie Epinephrin, Thrombin, ADP und Kollagen (109), aber auch mit einer Reihe nicht körpereigener Substanzen wie z.B. Ristocetin ausgelöst werden.

Für die ersten drei dieser Substanzen sind mittlerweile auch Rezeptoren auf der Thrombozytenmembran hinlänglich charakterisiert (130).

Da ADP nicht nur selbst die Plättchenaggregation auslösen kann (109), sondern auch dosisabhängig bei der Kollagen- und Thrombininduzierten Aggregation aus Plättchenspeichern freigesetzt (112), die Aggregation auf diese Stimuli durch ADP-abfangende Systeme reduziert (20), ferner aus dem Plättchen-sezernierten proaggregatorischen ADP in der Gefäßwand enzymatisch das antiaggregatorische Adenosin gebildet wird (25), wurde dieses Nukleotidsystem als wesentliches biochemisches Substrat der Plättchenaggregation und der antithrombotischen Eigenschaft der intakten Gefäßwand vorgeschlagen (62).

Mehrere experimentelle Befunde waren aber mit ADP als einzigem Mechanismus der Thrombozytenaggregation nicht zu erklären: Nichtsteroidale Antiphlogistika, die die sogenannte zweite Welle der Aggregation mit irreversibler Aggregation und Release-Reaktion auf ADP aufheben, hemmen zwar auch die Aggregation auf niedrige Konzentrationen von Thrombin und Kollagen, ebenfalls gerade aber nicht die irreversible Aggregation auf höhere Konzentrationen dieser Stimuli (76). Mit Thrombinvorbehandlung degranulierte und damit ihres ADPs beraubte Plättchen aggregieren nicht nur auf exogenes ADP, sondern auch auf Arachidonsäure (77). Damit war mindestens ein weiterer biochemischer Mechanismus der Aggregation zu fordern. In der Tat erwies sich dieser Mechanismus als vom ADP der Plättchen nicht kritisch abhängig (21).

Thrombozyten und Prostaglandine

Die Stoffgruppe der Prostaglandine (PGs) (39) sind zyklisierte Keto- und Hydroxy-substituierte Metabolite der C 20 : 4 (bzw. C 20 : 3, C 20 : 5) polyungesättigten Fettsäuren (7), die in allen bisher untersuchten Geweben durch enzymatische Freisetzung der Präkursor-Fettsäuren aus den Strukturphospholipiden (41) lokal gebildet werden und ein buntes Spektrum biologischer Wirkungen entfalten (Abb. 1).

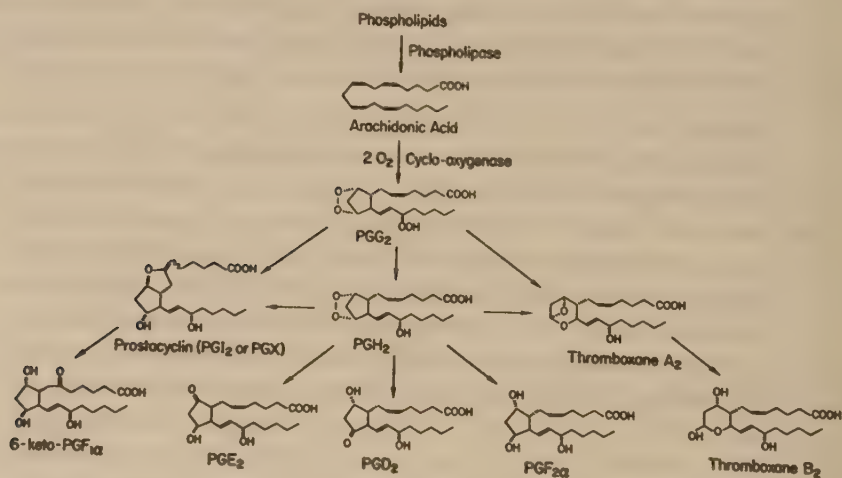


Abb. 1: Syntheseweg der Prostaglandine (hier der 2er Reihe): Freisetzung von Arachidonsäure aus Strukturphospholipiden durch Phospholipase A₂-Aktivierung, Bildung der zyklischen Endoperoxide (PGG₂, PGH₂) durch die Cyclooxygenase, Umlagerung zu den klassischen Prostaglandinen E₂, D₂ und F_{2α} oder Bildung des instabilen Prostacyclins und Thromboxans A₂ und rasche Spontanhydrolyse in 6-Keto-PGF_{1α} und Thromboxan B₂

Mehrere seit Beginn der 70er Jahre bekannten Fakten, sprachen für eine mehr als nur epiphänomenale Rolle der Prostaglandine bei der Plättchenaggregation: Arachidonsäure (AS) kann in-vitro die Aggregation auslösen (139), als wohl dominierendes Wirkprinzip der 'nicht-steroidalen Antiphlogistika', insbesondere der Azetylsalizylsäure ist die Hemmung der PG-Synthese anzusehen (136), ASS hemmt die Aggregation und Release-Reaktion u.a. auf ADP und Kollagen (110) und bei der Aggregation werden PGs (D_2 , E_2) freigesetzt (135). Da die damals bekannten klassischen PGs sich am Plättchen entweder antiaggregatorisch (D_2 , E_1) oder indifferent (E_2 , F_{1a}) verhalten (137) lag es nahe einen anderen Prostaglandin-ähnlichen Arachidonsäure-Metaboliten in Plättchen als Substrat der Arachidonsäure-induzierten Aggregation zu postulieren.

1975 wurden die proaggregatorischen zyklischen Endoperoxide als gemeinsame Zwischenprodukte aller PGs erkannt (55). Kurz danach wurden das proaggregatorische und vasokonstriktorische Thromboxan A_2 (56) als Hauptprodukt des AS-Stoffwechsels der Thrombozyten entdeckt und strukturell aufgeklärt. TXA_2 als stärkstes bekanntes endogenes Aggregans und einer der potentesten bekannten endogenen Vasokonstriktoren (108) zerfällt schnell ($T_{1/2}$ ca. 30 ") durch spontane Hydrolyse in das biologisch weitgehend inaktive und relativ stabile TXB_2 (56) (Abb. 2).

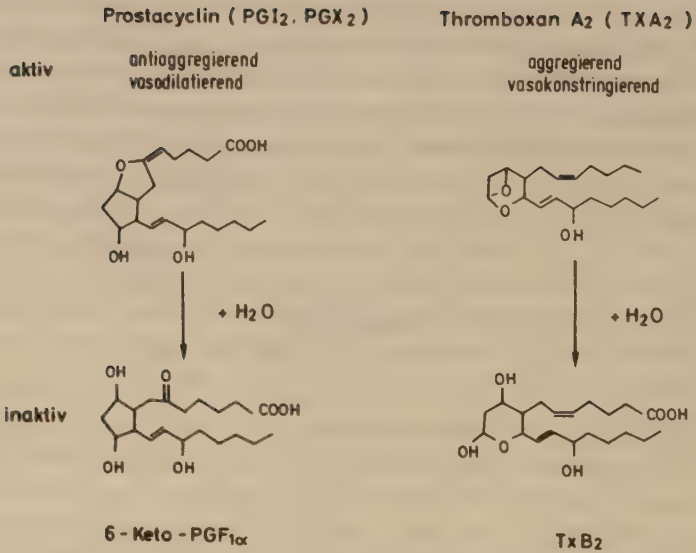


Abb. 2: Antagonistische biologische Wirkungen von Prostazyklin und Thromboxan A₂ auf Gefäße und Thrombozyten und Spontanhydrolyse in ihre biologisch inaktiven Hauptmetaboliten 6-Keto-PGF_{1α} und Thromboxan B₂.

Unter physiologischen Verhältnissen scheint für die Thrombozytenaggregation die Wirkung des TXA_2 wichtiger zu sein, als die der zyklischen Endoperoxide (44).

Kurze Zeit später wurde ebenfalls der Arachidonsäure-Hauptmetabolit der Gefäßintima, das über dieselben Endoperoxide entstehende, antiaggregatorische und vasodilatatorische Prostazyklin, an Hand seiner biologischen Wirkung entdeckt (99) und strukturell aufgeklärt (31). PGI_2 erwies sich als das stärkste bekannte biogene Antiaggregans (99) und potenter Vasodilatator (100) und zerfällt ebenfalls schnell ($T_{1/2} \approx 2'$) durch spontane Hydrolyse in das biologisch inaktive und rel. stabile 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ (99) (Abb. 2).

Schon bald wurde ein Gleichgewicht dieser beiden potenten, an Plättchen und Gefäßwand antagonistisch wirkenden Hauptprodukte der Arachidensäure in eben diesen beiden Strukturen als biochemisches Korrelat der teleologisch sinnvollen Homöostase der intakten und verletzten Gefäßwand diskutiert (79) (Abb. 3):

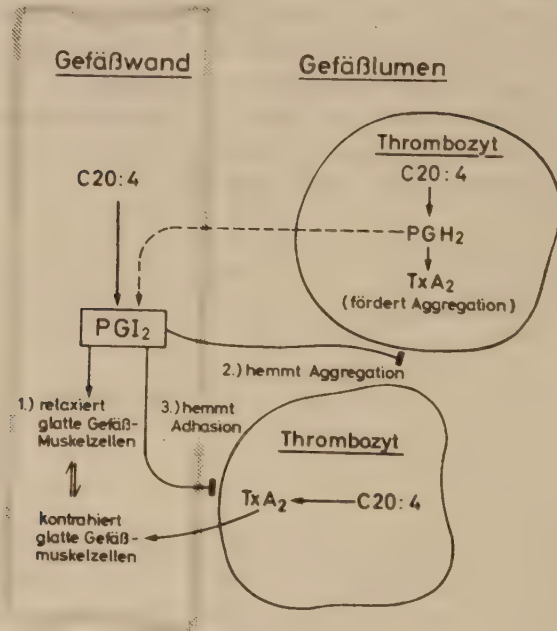


Abb. 3: Gleichgewicht der antagonistischen Hauptprodukte der Arachidonsäure im Thrombozyten und in der Gefäßwand, Thromboxan A₂ und Prostazyklin, an der glatten Gefäßmuskulatur und in der Interaktion Thrombozyt-Endothelzelle. Umleitung thrombozytärer Endoperoxide zur endothelialen Prostazyklin-Synthetase als möglicher Mechanismus zur Begrenzung des Wachstums eines Plättchenthrombus bei Erreichen intakten Endothels.

Thromboxan A_2 hemmt die Adenylcyclase im Plättchen und senkt damit die cAMP-Spiegel (95), PGI_2 stimuliert dieses Enzym und hebt die cAMP-Spiegel im Plättchen an (45). Der cAMP-Spiegel scheint nicht nur die zentrale Regelgröße zur Bestimmung der Reaktionsbereitschaft der Thrombozyten darzustellen (45), sondern hemmt auch die Phospholipase A_2 und damit die Substratbereitstellung für die TXA_2 -Synthese (98), sowie möglicherweise auch die Cyclooxygenase (90). Endoperoxide aus stimulierten Plättchen können, außer der weiteren Metabolisierung im Plättchen zu TXA_2 , auch von nahegelegenen Endothelzellen zu PGI_2 umgesetzt werden (15), was einen Mechanismus zur Begrenzung des Wachstums eines Plättchenthrombus bei Erreichen intakten Endothels abgeben könnte.

Exogenes PGI_2 ist in der Tat wirksam in der Verhütung experimenteller Thrombosen in Tiermodellen (63), wohingegen exogenes TXA_2 in Tiermodellen Infarkte erzeugen kann (105). Spezifische Inhibitoren der PGI_2 -Synthese, best. Hydroperoxy-Fettsäuren, heben die antiaggregatorische Aktivität der Gefäßwand auf (16), spez. Antagonisten von TXA_2 verkleinern exp. Infarkte (128). Die direkte Testung an Endothelkulturen deutete auf PGI_2 als Korrelat der antiadhäsiven Eigenschaft des intakten Endothels hin (29). In einem anderen Modell mit einer virustransformierten Endothellinie ergaben sich jedoch Hinweise auf einen PGI_2 unabhängigen zusätzlichen Mechanismus (28).

Die direkte antiaggregatorische Wirkung des PGI_2 , läßt es wegen der möglichen Involvierung von Plättchenaggregaten in akute Exazerbationen einer atherothrombotischen Gefäßerkrankung wünschenswert erscheinen, die postulierte Balance von PGI_2 und TXA_2 zugunsten des PGI_2 zu verschieben. Daneben könnte die Suppression der Release-Reaktion (damit auch des mitogenen Faktors) (116) und eine indirekte über cAMP vermittelte Suppression der glatten Muskelzellen (66) die chronische Entwicklung einer atherosklerotischen Gefäßkrankheit günstig beeinflussen.

Schon sehr niedrige Dosen von ASS zerstören die Cyclooxygenase im Plättchen durch Azetylierung am N-terminalen, aktiven

Zentrum des Enzyms (122) irreversibel, da Plättchen einer Protein de-novo-Synthese nicht fähig und somit für ihre Lebensspanne durch ASS inaktivierbar sind (89). Endothelzellen nehmen nach vorübergehender Exposition mit niedrigen Dosen ASS aber schnell durch de-novo-Synthese von Cyclooxygenase ihre PGI_2 -Bildung wieder auf (69). Deshalb wurde eine seltene (103) oder sehr niedrig dosierte (111) Azetylsalizylsäure-Therapie vorgeschlagen, die die proaggregatorisch wirkende, unerwünschte TXA_2 -Bildungsfähigkeit der Plättchen weitgehend unterdrücken sollte, ohne die erwünschte endotheliale PGI_2 -Bildung zu sehr zu beeinträchtigen.

Nach diesem attraktiven theoretischen Konzept könnte möglicherweise der durchweg bescheidene Erfolg klinischer Studien mit klassisch dosierten Aggregationshemmern, zumindest soweit sie über eine Interferenz am proximalen PG-Stoffwechsel wirken, auf diese gleichzeitige Beeinträchtigung der protektiven vasculären PGI_2 -Bildung bezogen werden. Nachdem in verschiedenen artifiziellen Systemen Hinweise für diese Vorstellungen gewonnen wurden (69, 74a) sollten vor einer breiteren klinischen Erprobung in einer Voruntersuchung gängige Therapieschemata von Thrombozytenaggregationshemmern unter realistischen Bedingungen mit sehr niedrig dosierter Azetylsalizylsäure verglichen werden.

Problemstellung

Es sollten einige Parameter der Plättchenfunktion an Patienten mit gesicherter schwerer koronarer Herzerkrankung untersucht und mit einem angepaßten Normalkollektiv verglichen werden. Dieselben Untersuchungen wurden an einer jüngeren, gesunden Versuchsgruppe vor und nach kurzzeitiger Therapie mit drei gegenwärtig gängigen Behandlungsschemata mit Thrombozytenaggregationshemmern und mit sehr niedrig dosierter Azetylsalizylsäure durchgeführt.

Im einzelnen wurden neben einem groben Risikoprofil, in sorgfältig standardisierter Weise die Plättchenaggregation und die damit verbundene Thromboxan B_2 -Bildung in vitro auf mehrere Stimuli mit möglicher Bedeutung für die in vivo Thrombusbildung untersucht.

Im einzelnen sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- I) Finden sich im gewählten Testmodell meßbare Veränderungen der Plättchenfunktion bei Koronarpatienten im Vergleich zu einem angepaßten Normalkollektiv.
- II) Finden sich altersabhängige Veränderungen der Plättchenfunktion bei Normalpersonen.
- III) Wie beeinflussen die untersuchten Therapieformen die Plättchenfunktion im Testmodell.
- IV) Lassen sich rationale Begründungen für die Wahl einer bestimmten Therapieform finden. Gibt es insbesondere Hinweise für die theoretisch postulierte Überlegenheit sehr niedrig dosierter Azetylsalizylsäure.

Methoden

Probanden

I. Koronar-Patienten

Aus etwa 80 konsekutiven Patienten, die auf Grund gängiger klinischer Kriterien (refraktäre A.p., Z.n. Inf.) zur invasiven Koronardiagnostik überwiesen wurden stellt sich bei 25 mindestens eine hochgradige (90 %) proximale Koronarstenose dar, die Operations-würdig und -fähig waren. Nach entsprechender Aufklärung waren 24 Patienten bereit sich an der Untersuchung zu beteiligen. Bei allen Patienten war es möglich die etablierte antianginöse Therapie auf 3 x 40 mg/d Propranolol, 3 x 20 mg/d Isosorbitdinitrat, sowie Glycerintrinitrat 0,8 mg s.l. b.Bed. zu standardisieren. Keine anderweitige Therapie war nötig und die Pat. hatten mindestens 2 Wochen vor Untersuchung keinerlei sonstige Medikation, insbesondere Analgetika, erhalten. Die Untersuchung wurde im Allgemeinen 2 Tage nach der Herzkatheterisation (mit Gabe von 5000 IE Heparin) durchgeführt. Durch Untersuchung von 3 Patienten vor und am Tage nach Katheterisation (mit identischen Resultaten), wurde eine Beeinflussung der Plättchenfunktionstudien durch die Gefäßmanipulation, Heparin- und Kontrastmittelgabe beim Herzkatheter ausgeschlossen.

II. Altersgleiches Kontrollkollektiv

Es wurden 3 Patienten ausgewählt, die in obiger Reihe wegen zunächst als A.p. interpretierter Beschwerden koronarangiographiert worden waren und bei denen weder ein Anhalt für Stenosen, allgemeine Wandveränderungen, Spasmen oder Ventrikelhypokinesien noch ein sonstiger klinischer Anhalt für ein Gefäßleiden gefunden wurde. Daneben wurden 7 Patienten ohne klinische elektrokardiographische und ergometrische Hinweise auf ein Gefäßleiden und ohne anamnestisch eruierbare Risikofaktoren untersucht. Die Pat. hatten zu dem Zeitpunkt keinerlei Therapie und waren meist zur Abklärung eines zufällig erhobenen apparativen Befundes (sonographischer V.a. Leberherd, positiver Hämooccult, Erythrozyturie, uncharakteristische UB. Beschwerden), dem dann kein org. pathologischer Befund zugeordnet werden konnte, eingewiesen worden.

III. Medikamentenversuche

8 junge, gesunde, nichtrauchende und normalgewichtige Freiwillige die keinerlei Medikamente eingenommen hatten, wurden in einen vollständigen Kreuzversuch mit Dipyridamol (D) (3 x 75 mg/d), Sulfinpyrazon (S) (4 x 200 mg/d), Azetylsalizylsäure (ASS) (100 mg/d) und ASS (3 x 330 mg/d) kombiniert mit D (3 x 75 mg/d) (Ass + D) zufallsverteilt. Da nur kommerzielle Zubereitungen zur Verfügung standen, wurde kein strenger Doppelblindversuch erreicht, dem Untersucher waren jedoch die jeweils verabreichten Medikamente unbekannt. Jede Versuchsphase dauerte 4 Tage mit mindestens 10 Tagen Pause zwischen den Phasen. Anfangsdaten wurden am Tag 0, Interventionsdaten am Tag 5 erhoben, d.h. 10, 12, bzw. 24 h nach der letzten Medikation.

Probengewinnung und Analysen

Proben wurden jeweils um 8.⁰⁰ morgens, nach einer Ruheperiode, nüchtern und in sorgfältig standardisierter Weise gewonnen.

Die subaquale Blutungszeit wurde nach einem "Hämostilet"-Stich ins Ohrläppchen bestimmt.

Die Kubitalvene wurde nach Stauung sofort, möglichst atraumatisch mit einer 1,3 mm Blutentnahmekanüle punktiert und Proben, in die mit entsprechenden Stabilisator-Lösungen (Endkonzentration in Klammern) vorbereiteten Spritzen aufgezogen und sofort gemischt. Serum-Cholesterin, Triglyceride, Harnsäure, Glucose und Hämoglobin und Thrombozytenzahl wurden mit Routinemethoden im klinischen Labor aus Nativ-Serum, bzw. EDTA-Plasma bestimmt. Plasma-Katecholamine wurden radioenzymatisch (116) aus EGTA/GSH- (190/120 mg %) stabilisiertem Plasma gemessen.

Die Probe zur Bestimmung des Plasma-TXB₂-Spiegels wurde grundsätzlich als erste nach Punktion in Meclofenamat (10 mg/ml)/ EDTA (5 x 10⁻³M)-Lösung gezogen. Für Aggregationsstudien wurde Blut in Citrat (3,4 %) gezogen (1 : 10), sofort zentrifugiert (200 g, 5 min) und das resultierende plättchenreiche Plasma (PRP) mit autologem plättchenarmen Plasma (PAP) auf eine Zahl von 250 000 Thrombozyten/ μ l eingestellt.

Die Plättchenaggregation wurde nach der Methode von Born (123) mit Hilfe eines "Labor-Aggregometers" (Fresenius, Bad Homburg) gemessen. Dabei wird die optische Dichte kontinuierlich gerührten TRP's gemessen, die mit der Bildung größerer Plättchenaggregate aus den ursprünglich monodispersen Plättchen abnimmt. Die max. Veränderung der Lichttransmission auf Aggregation wird als % angegeben, wobei 100 % 0,14 optischer Dichte entsprechen. Zu standardisierten Zeitpunkten nach Probengewinnung (40-90min) wurde in parallel geführten Doppelansätzen durch Zugabe der jeweiligen Aggregantien die Aggregation ausgelöst. Im einzelnen wurden Adenosindiphosphat (0,5-2,5 $\mu\text{mol/l}$ TRP) (Serva, Heidelberg), Kollagen (1-10 $\mu\text{g/ml}$ TRP) Horm-Chemie, München) und Arachidonsäure (1,8 mmol/l TRP) (Serva) verwendet (Endkonzentrationen). Die Aggregations-assoziierte TXA_2 -Bildung wurde durch Radioimmuno-Assay von TXB_2 , dem stabilen spontanen Hydrolyse-Produkt von TXA_2 gemessen. Dazu wurde nach 5 min durch Ansäuern (pH 3,2) die Aggregation gestoppt und die Probe organisch extrahiert (EAc/MeOH). Analog wurde bei der Messung der TXB_2 -Plasma - Spiegel verfahren.

Zum RIA wurde ein spezifischer Antikörper (Geschenk von L. Levine, Brandeis University, Waldham, Mass., U.S.A.), TXB_2 -Standard (Geschenk von Dr.J.Pike, Upjohn Comp., Kalamazoo, U.S.A.) und $^3\text{H-TXB}_2$ (spez.Akt. 25 Ci/mmol, NEN, Boston, U.S.A.) verwendet.

Durch ausgiebige Voruntersuchungen (124) war sichergestellt, daß die einzelnen Aggregationsexperimente nicht kritisch von der Zeit nach Probennahme abhingen. Wiederholte Untersuchungen an den jungen Probanden über den Zeitraum von mehreren Monaten erbrachten hochgradig reproduzierbare Ergebnisse der Plättchen-Aggregation.

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des t-Tests von Student für unverbundene, bzw. verbundene Stichproben statistisch ausgewertet.

Ergebnisse

I. Untersuchungen an Koronar-Patienten und Kontrollgruppen

Die untersuchten Kollektive, Patienten mit gesicherter schwerer koronarer Herzerkrankung (im folgenden kurz KHE genannt) und die altersgleichen bzw. jüngeren Normalpersonen ohne Anhalt für eine Gefäßerkrankung (im folgenden kurz N_2 bzw. N_1 genannt) waren bezüglich der Geschlechtsverteilung, die ersteren auch bez. der Altersverteilung, gut vergleichbar. Während die beiden Kontrollkollektive N_1 und N_2 für Körpergröße und Gewicht praktisch gleiche Mittelwerte aufwiesen, waren die KHE-Patienten mit Mittel adipöser, der Unterschied erreichte jedoch nicht Signifikanzniveau. 23 der 24 KHE-Patienten erlitten zum Zeitpunkt der Untersuchung noch regelmäßig starke A.p.-Attacken (jedoch nicht innerhalb der letzten 24 Std. vor Probennahme). 16 hatten nach aktuellen EKG- oder Ventrikulographiekriterien oder nach dokumentierten EKG- und Enzym-Verläufen einen Myocardinfarkt erlitten. (Tab. 1).

	Alter (J)	KG (kg)	Größe (cm)	m	f	A.p.	Z.n.MI
N ₁	32+6,5	68+14,1	177+7	5	3	0	0
N ₂	51+10,5	67,6+12,2	174+6	8	2	0	0
KHE	52,3+8,1	72,2+10,2	167+6	21	4	23	16

Tab.1: Biometrische und klinische Daten des jungen Normalkollektivs (N₁, n = 8), der altersangepassten Normalkollektivs (N₂, n = 10) und der Gruppe der Koronarpatienten (KHE, n = 24); KG: Körpergewicht, m: männlich, f: weiblich, A.p.: Angina pectoris, Z.n.MI: Z.n.Myokardinfarkt; Mittel $\pm$ SD.

In einigen serochemischen Parametern, darunter bekannte Risikofaktoren für die Entwicklung einer Gefäßkrankheit, zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen der Patientengruppe (KHE) und der Kontrollgruppe (N_2): Serum-Cholesterin, Triglyceride, Harnsäure, Hämoglobin und Plasma-Norepinephrin lagen bei KHE-Pat. signifikant höher, während Plasma-Nüchternglukose, Epinephrin und die Blutungszeit praktisch gleich gefunden wurden. Für alle diese Parameter bestanden praktisch keine Unterschiede zwischen den Normalkollektiven N_1 und N_2 , wo lediglich die Blutungszeit bei N_1 signifikant höher lag. (Tab. 2).

	Chol (mg %)	TG (mg %)	Glu (mg %)	HS (mg %)	Hb (g %)	BZ (sec)	NA (pg/ml)	A (pg/ml)
N ₁	180±31	83±48	88±12	5,8±1,5	14,6±2,1	138±52	154±80	38±21
N ₂	182±57	123±70	93±16	5,0±1,4	13,0±2,3	85±34	132±66	46±22
KHE	260±49	168±64	100±14	6,7±1,8	14,4±1,3	96±37	185±70	32±25

Tab. 2: Laborparameter der Normalkollektive N₁ und N₂ im Vergleich zum Patientenkollektiv KHE; Chol: Plasma-Cholesterin, TG: Triglyceride, Glu: Glucose, HS: Harnsäure, Hb: Hämoglobin, BZ: subaquale Blutungszeit, NA: Noradrenalin, A: Adrenalin; Mittel ± SD, * : 2p ≤ 0,05, ** : 2p ≤ 0,01, *** : 2p ≤ 0,001.

Bei praktisch identischen peripheren Plättchenzahlen der Gruppen N_2 und KHE, hatten die KHE-Patienten höhere periphere Thromboxan- B_2 -Spiegel (n.S.), während die jungen Normalpersonen (N_1) trotz signifikant höherer peripherer Plättchenzahlen niedrigere periphere TXB_2 -Spiegel als N_2 aufwiesen (n.S.). (Abb. 4).

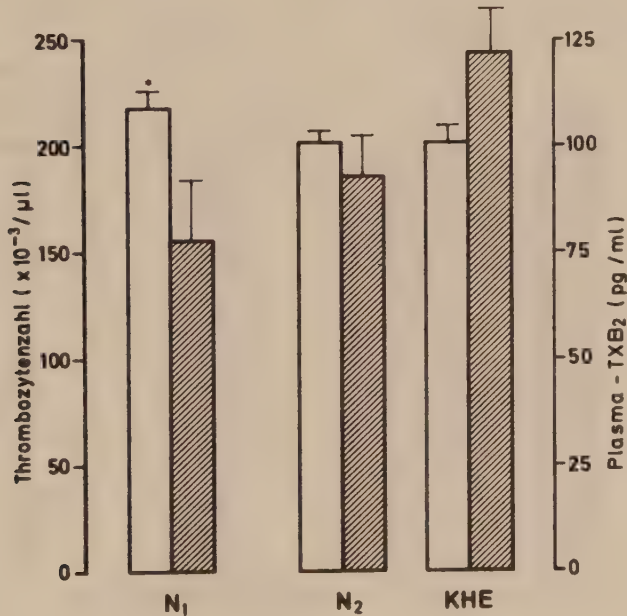


Abb. 4: Thrombozytenzahl und periphere Plasma-Thromboxan B_2 -Spiegel der Normalkollektive N_1 und N_2 im Vergleich zum Patientenkollektiv KHE; Mittel $\pm$ SEM, *: $2p \leq 0,05$.

Die mit niedrigen Kollagenkonzentrationen induzierte Aggregation nahm in der Reihenfolge junges Normalkollektiv, altersgleiches Normalkollektiv, KHE-Patienten zu (n.s.), während Kollagen im Überschuß die gleiche, vollständige Aggregation bei allen Gruppen auslöste und die mit der Aggregation assoziierte TXB_2 -Bildung ebenfalls bei allen Kollagen-Konzentrationen in etwa gleich gefunden wurde. (Abb. 5).

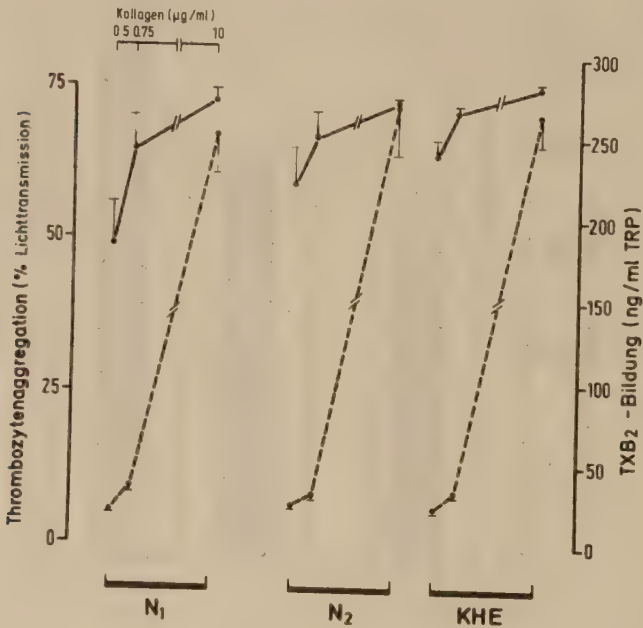


Abb.5: Dosis-Wirkungskurven der Kollagen-induzierten Thrombozytenaggregation (ausgezogene Linien) und assoziierten Thromboxan B_2 -Bildung (unterbrochene Linien) bei den Normalkollektiven N_1 und N_2 und dem Patientenkollektiv KHE; Mittel $\pm$ SEM.

Ein ähnliches Muster zeigte sich bei der ADP-induzierten Aggregation: Die Aggregation auf kleine und mittlere Konzentrationen ADP nahm in der Reihenfolge N_1 , N_2 , KHE zu, die mittlere Mindestkonzentration von ADP für die Auslösung der irreversiblen Aggregation in dieser Reihenfolge ab. Nur der Unterschied in der Aggregation auf $1 \mu\text{M}$ ADP war jedoch zwischen N_1 und N_2 signifikant ($2p \leq 0,05$) (Abb. 6).

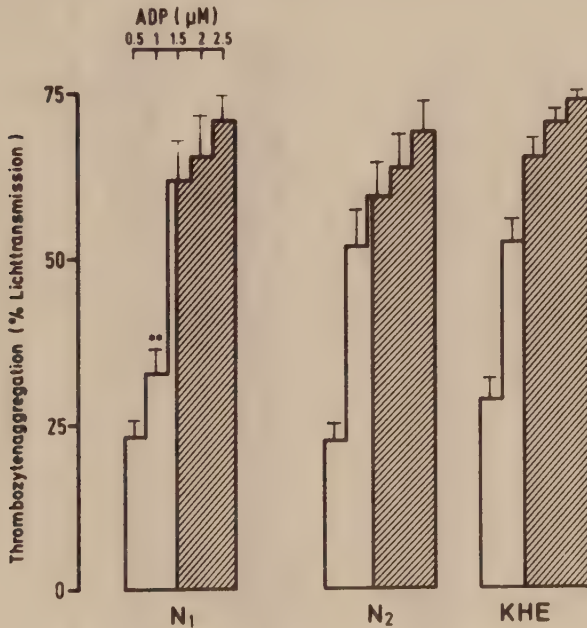


Abb.6: Dosis-Wirkungskurve der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation (weiß: mittlerer Bereich der reversiblen, gestrichelt: mittlerer Bereich der irreversiblen Aggregation) bei den Normalkollektiven N_1 und N_2 und dem Patientenkollektiv KHE; Mittel $\pm$ SEM, ** : $2p \leq 0,01$).

Die Arachidonsäure-induzierte Aggregation (von uns nur bei einer Überschußkonzentration untersucht) wurde bei allen Gruppen, N_1 , N_2 und KHE, gleich gefunden, die assoziierte TXB_2 -Bildung nahm jedoch wieder in der Reihenfolge N_1 , N_2 , KHE zu (n.S.). Abb. 7).

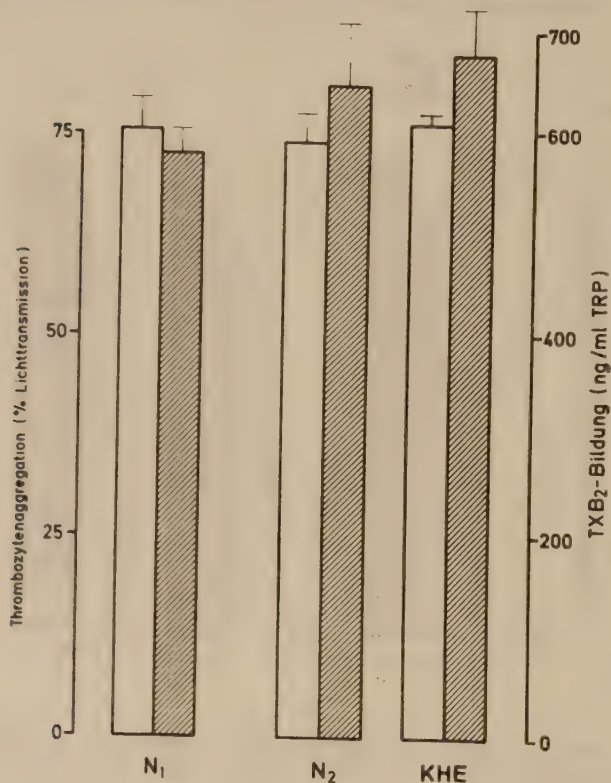


Abb. 7: Arachidonsäure (1,8mmol/l)-induzierte Thrombozytenaggregation (weiße Säulen) und assoziierte Thromboxan B_2 -Bildung (gestrichelte Säulen) bei den Normalkollektiven N_1 und N_2 und dem Patientenkollektiv KHE; Mittel $\pm$ SEM.

II. Untersuchungen mit Aggregationshemmern an Normalpersonen

Subjektive Nebenwirkungen (Kopfschmerz, Magensensationen) wurden nach D, S, und ASS + D Medikation geklagt, waren jedoch nicht so gravierend, um zum Abbruch der Einnahme zu zwingen. Die Blutungszeit war nach ASS (n.s.) und ASS + D ($2p \leq 0,05$) deutlich verlängert, nach S und D unverändert (Tab. 3).

	C	D	S	ASA	ASA + D
gastrointestinale Beschwerden	2	2	2		
Kopfschmerzen	5	1	2		
BZ (sec)	138 $\pm$ 50	148 $\pm$ 57	137 $\pm$ 60	175 $\pm$ 61	228 $\pm$ 131*

Tab. 3: Subjektive Nebenwirkungen und Blutungszeit (BZ) unter Therapie mit Aggregationshemmern; C: Kontrolle, D: Dipyridamol (3 x 75 mg/d), S: Sulfinpyrazon (4 x 200 mg/d), ASA: Azetylsalizylsäure (100 mg/d), ASA + D: Szetylsalizylsäure (3 x 330 mg/d) kombiniert mit Dipyridamol (3 x 75 mg/d); Mittel $\pm$ SD, *: 2p $\leq$ 0,05.

Nach S (n.s.), ASS ($2p \leq 0,05$) und ASS + D ($2p \leq 0,05$) wurden die peripheren Plättchenzahlen erhöht gefunden, nach D unverändert. Bis auf D (das sogar zu einer nicht signifikanten Erhöhung führte), hatte keines der untersuchten Medikamente einen eindeutig nachweisbaren Einfluß auf die Plasma-TXB₂-Spiegel. (Abb. 8).

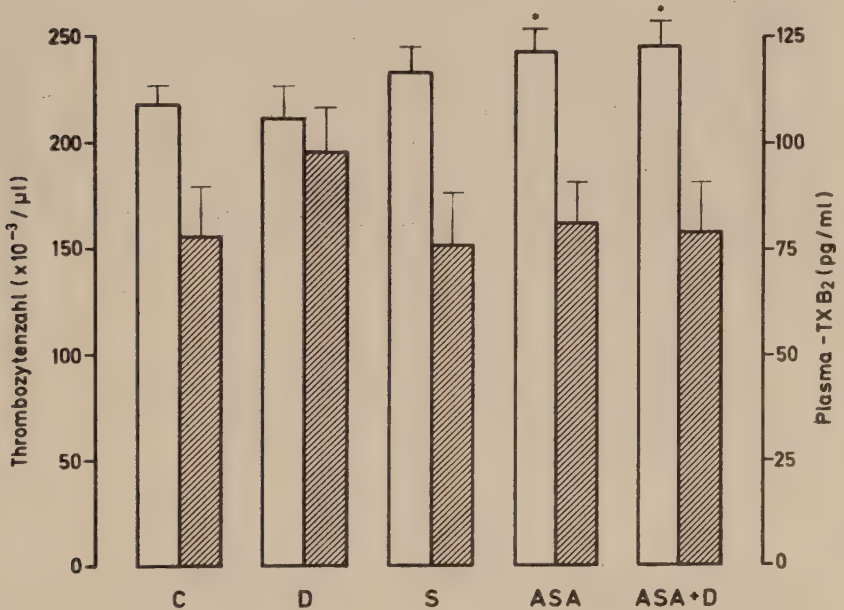


Abb. 8: Thrombozytenzahl und periphere Thromboxan B₂-Spiegel unter Therapie mit Aggregationshemmern; C: Kontrolle, D: Dipyridamol (3 x 75 mg/d), S: Sulfinyprazon (4 x 200 mg/d), ASA: Azetylsalizylsäure (100 mg/d), ASA D: Azetylsalizylsäure (3 x 330 mg/d) kombiniert mit Dipyridamol (3 x 75 mg/d); Mittel $\pm$ SEM, * : $2p \leq 0,05$

Unter Kontrollbedingungen bestand eine signifikante inverse Korrelation zwischen Plättchenzahl und Blutungszeit ($r = -0,72$; $P = 0,05$), die unter allen untersuchten Therapieschemata aufgehoben war.

Bei der Kollagen-induzierten Aggregation wurde für alle untersuchten Konzentrationen kein Unterschied in der Aggregation und TXB_2 -Bildung zwischen der Kontrolle und der Medikation mit D gefunden, während nach S sowohl die Aggregation als auch die TXB_2 -Bildung auf niedrige, nicht aber auf hohe Konzentrationen von Kollagen signifikant erniedrigt waren ($2p \leq 0,05$). Sehr niedrig dosierte ASS hemmte ebenso wie ASS kombiniert mit D stark die Aggregation auf niedrige ($2p \leq 0,01$), aber nicht auf hohe Konzentrationen von Kollagen und unterdrückte die TXB_2 -Bildung auf alle untersuchten Konzentrationen von Kollagen nahezu vollständig ($2p \leq 0,001$). (Abb. 9).

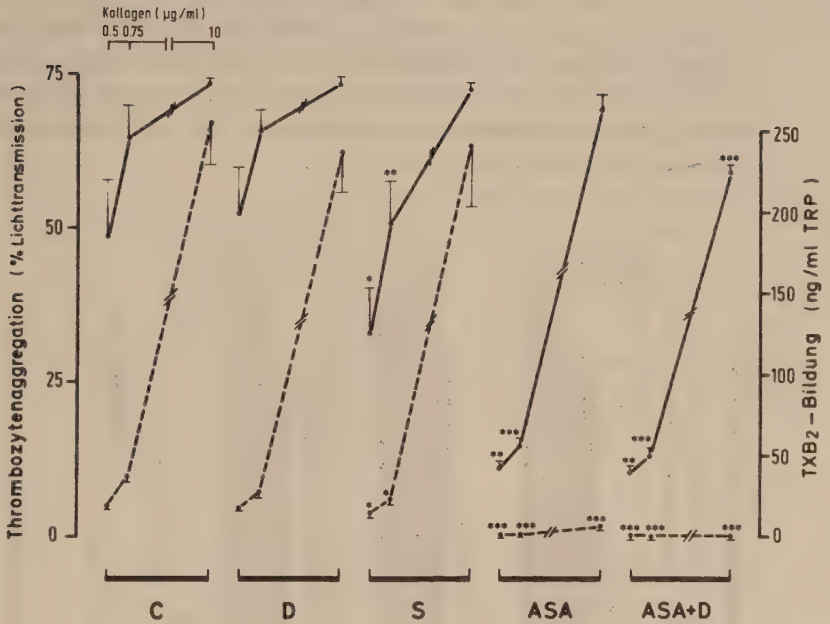


Abb.9: Dosis-Wirkungskurve der Kollagen-induzierten Thrombozytenaggregation (ausgezogene Linien) und azzoziierten Thromboxan B₂-Bildung (unterbrochene Linien) unter Therapie mit Aggregationshemmern; C: Kontrolle, D: Dipyridamol (3 x 75 mg/d), S: Sulfipyrazon (4 x 200 mg/d), ASA: Azetylsalizylsäure (100 mg/d), ASA + D: Azetylsalizylsäure (3 x 330 mg/d) kombiniert mit Dipyridamol (3 x 75 mg/d); Mittel $\pm$ SEM, * : $2p \leq 0,05$, ** : $2p \leq 0,01$, *** : $2p \leq 0,001$.

Bei der ADP-induzierten Aggregation führten sowohl D als auch S nur zu einem kleinen Anstieg der mittleren Mindestkonzentration von ADP für die irreversible Aggregation (n.s.). Sehr niedrig dosierte ASS und ASS kombiniert mit D verhinderte gleichermaßen die irreversible Aggregation auf ADP vollständig und hemmten die Aggregation auf höhere Konzentrationen von ADP signifikant ($2p \leq 0.05$). (Abb. 10).

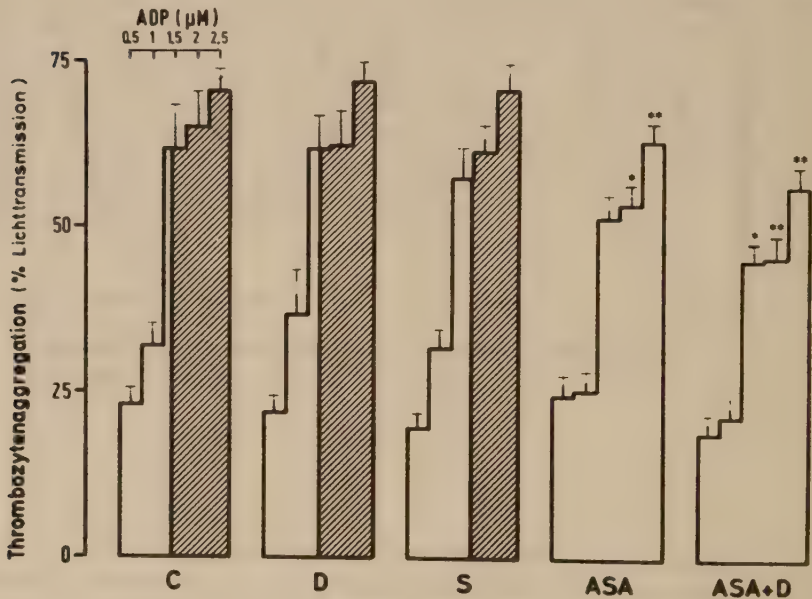


Abb.10: Dosis-Wirkungskurve der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation (weiß: mittlerer Bereich der reversiblen, gestrichelt: mittlerer Bereich der irreversiblen Aggregation) unter Therapie mit Aggregationshemmern; C: Kontrolle, D: Dipyridamol (3 x 75 mg/d), S: Sulfinpyrazon (4 x 200 mg/d), ASA: Azetylsalizylsäure (100 mg/d), ASA D: Azetylsalizylsäure (3 x 330 mg/d) kombiniert mit Dipyridamol (3 x 75 mg/d); Mittel $\pm$ SEM, * : $2p \leq 0.05$, ** : $2p \leq 0.01$.

Bei der mit einem Überschuß von Arachidonsäure induzierten Aggregation beeinflussten weder D noch S die Aggregation oder TXB_2 -Bildung. Dagegen hemmten ASS in Kombination mit D, aber in identischer Weise auch sehr niedrig dosierte ASS sowohl die Aggregation als auch die TXB_2 -Bildung nahezu vollständig. ($2p \leq 0.001$). (Abb. 11).

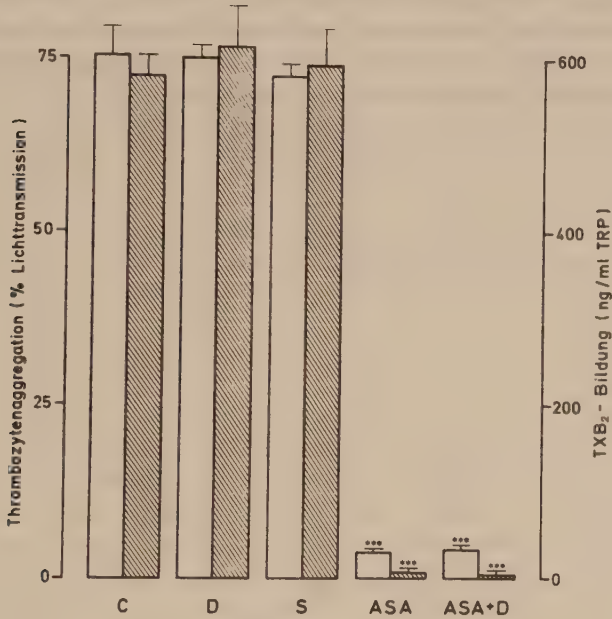


Abb. 11: Arachidonsäure (1,8 mmol/l)-induzierte Thrombozytenaggregation (weiße Säulen) und assoziierte Thromboxan B_2 -Bildung (gestrichelte Säulen) unter Therapie mit Aggregationshemmern; C: Kontrolle, D: Dipyridamol (3 x 75 mg/d), S: Sulfinpyrazon (4 x 200 mg/d), ASA: Azetylsalizylsäure (100 mg/d), ASA D: Azetylsalizylsäure (3 x 330 mg/d) kombiniert mit Dipyridamol (3 x 75 mg/d); Mittel $\pm$ SEM, ***: $2p \leq 0.001$.

Unter Kontrollbedingungen fanden sich signifikante Korrelationen zwischen der Aggregation und TXB_2 -Bildung auf Arachidonsäure ($r = 0.63$, $p \leq 0.05$), zwischen der Aggregation auf Arachidonsäure und auf höhere Konzentrationen von ADP die zur irreversiblen Aggregation führen ($r = 0.65$, $p \leq 0.05$) und zwischen der Aggregation und TXB_2 -Bildung auf niedrige ($r = 0.93$, $p \leq 0.001$), aber nicht auf hohe Konzentrationen von Kollagen. Nur die Korrelation zwischen der Aggregation auf Arachidonsäure und auf höhere Konzentrationen von ADP war unter allen untersuchten Medikationen durchgehend erhalten ($r \geq 0.65$, $p \leq 0.05$).

Diskussion

I. Untersuchungen an Patienten

Die Beeinflussung der Plättchenfunktion bei verschiedenen thromboembolischen Erkrankungen erscheint aus den in der Einleitung dargelegten Gründen als attraktiver therapeutischer Ansatzpunkt. In der Tat wurden im letzten Jahrzehnt zahlreiche, sehr aufwendige klinische Studien mit unterschiedlichen Behandlungsregimes durchgeführt, deren klinischer Nutzen über eine Beeinflussung der Plättchenfunktion erhofft wurde. Obwohl diese Studien im allgemeinen nur beschränkte therapeutische Erfolge erbrachten, sollte im Lichte eines jetzt tieferen Verständnisses der Plättchenphysiologie, der Interaktion der Gefäßwand mit den Plättchen und der Pharmakologie der Antiplättchen-Substanzen dieser therapeutische Ansatzpunkt weiter verfolgt werden. Insbesondere wurde aufgrund des dargelegten theoretischen Konzepts eine sehr viel niedrigere denn die konventionelle Azetylsalizylsäure-Dosis als optimal postuliert.

Ziel dieser Untersuchung war es nun, sehr niedrig dosierte ASS in einem Kurzzeitversuch anhand schnell faßbarer experimenteller Parameter der in vivo und ex vivo Plättchenfunktion mit den derzeit gängigsten konventionellen Antiplättchenregimes zu vergleichen. Diese Parameter sollten möglichst an einem potentiellen Indikationsgebiet validisiert werden, bevor die letztlich allein entscheidende aber viel aufwendigere Überprüfung der klinischen Überlegenheit dieses Regimes versucht werden sollte.

Die in vitro Plättchenaggregation wurde mit drei häufig verwendeten Substanzen von potentieller Bedeutung für die in vivo Gerinnungsbildung ausgelöst: Kollagen aktiviert die Plättchen-Phospholipase A_2 , was zur selektiven Freisetzung von Arachidonsäure aus Membranphospholipiden führt (8), löst aber ebenfalls die Freisetzung von ADP aus Plättchen-Granula aus. ADP reagiert spezifisch mit Rezeptoren auf der Plättchen-Membran, was veränderte transmembranöse Ionenfluxe (4a) und eine Erniedrigung des cAMP im Plättchen zur Folge hat. Arachidonsäure steht direkt als Substrat für die Plättchen-Cyclooxygenase zur Verfügung, was

letztlich zur TXA_2 -Bildung führt (56).

Nur implizit erfaßt ist hierbei die komplexe Wechselwirkung der Plättchenaggregation mit der plasmatischen Gerinnung: So erfordert z.B. die Aggregation die Präsenz von Fibrinogen und v. Willebrand's Faktor, umgekehrt enthalten Plättchen z.B. Faktor V und beschleunigen die Aktivierung von Faktor X und Prothrombin (130).

Von größter Wichtigkeit bei der Untersuchung der Plättchenfunktion ist sicher die sorgfältige Konstruktion der zu untersuchenden Kollektive: Die Patienten in der KHE-Gruppe waren bei minimaler Ausfall-Quote nach der invasiv gestellten Diagnose konsekutiv aus dem nach gängiger Indikationsstellung der Koronarangiographie zugeführten Krankengut einer großen in der Überregionalen Versorgung tätigen internen Klinik rekrutiert worden. Eine Selektion war nicht erkennbar, was die Anwendbarkeit der Ergebnisse auf Patienten mit schwerer KHE sichern sollte.

Neben 3 Patienten, die aufgrund verdächtiger subjektiver Beschwerden während dieser Serie ebenfalls Koronarangiographiert wurden und bei denen sich invasiv keinerlei Anhalt für eine Gefäßerkrankung fand, mußte bei der Gewinnung des altersangepaßten Vergleichskollektivs auch auf 7 Pat. zurückgegriffen werden, bei denen lediglich klinisch eine Gefäßerkrankung ausgeschlossen werden konnte. Damit war natürlich nur ein geringerer Grad an diagnostischer Sicherheit zu erreichen. Auch bei dem jungen Kontrollkollektiv ist natürlich dieser Einwand prinzipiell zutreffend.

Bezüglich der biometrischen Daten waren die Gruppen KHE und N_2 gut vergleichbar. Bei einigen biochemischen Parametern, darunter mehrere gut gesicherte Risikofaktoren für eine Gefäßerkrankung, fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen KHE und N_2 , wohingegen bei diesen Parametern eine bemerkenswerte Übereinstimmung der Kontrollkollektive N_1 und N_2 gefunden wurde. Bei vielen dieser Risikofaktoren sind Veränderungen der Plättchenfunktion beschrieben, bei den meisten dieser Untersuchungen war jedoch umgekehrt das Vorliegen einer latenten aber bereits fort-

geschrittenen Gefäßerkrankung bei diesen Risikogruppen nicht mit invasiven Methoden ausgeschlossen.

Einen nicht zu eliminierenden Unterschied zwischen der Patientengruppe und den Kontrollkollektiven stellte die chronische Behandlung der Ersteren mit β -Blockern und Nitrokörpern dar, die aus ethischen Gründen nicht unterbrochen werden konnte. Die Therapie konnte jedoch vereinheitlicht werden und die Proben für die Plättchenstudien wurden morgens vor Einnahme der Medikation (d.h. 12 h nach der letzten Medikation) gewonnen. β -Blocker, insbesondere Propranolol, dem auch eine nicht rezeptorvermittelte 'membranstabilisierende Wirkung' zugeschrieben wird, interferieren mit der Plättchenfunktion in vitro zumindest bei höheren Konzentrationen (71), obwohl Plättchen keine β -Rezeptoren, sondern nur atypische α_2 -Rezeptoren tragen (70). Ein Einfluß von β -Blockern auf die Plättchenfunktion bei in vivo-Gabe ließ sich in unserem Testsystem nicht nachweisen (133). Jedenfalls deuten alle publizierten Befunde über β -Blockade und Plättchenfunktion allenfalls in Richtung auf eine Hemmung der Aggregation und TXA_2 -Synthese (71) und ebenso auf eine ungestörte endotheliale PGI_2 -Synthese (18). Ganz ähnlich sind für Nitrokörper nur in vitro ⁱⁿsuprapharmakologischen Spiegel n Hinweis auf eine Hemmung der Plättchenfunktion (126) und auf eine Stimulation der PGI_2 -Synthese (85) publiziert. Insgesamt wäre nach gegenwärtigem Kenntnisstand von der Medikation der KHE-Patienten im Sinne unserer Fragestellung allenfalls ein falsch negatives, aber kein falsch positives Ergebnis zu erwarten.

Die signifikant höheren Plasma-Noradrenalin-Spiegel, wie in der Patienten-Gruppe, sind bei chronischer β -Blockade (88) und bei koronarer Herzkrankheit beschrieben (129). Jedenfalls liegen sie noch deutlich unter den Spiegel n, von denen eine direkte oder indirekte Beeinflussung der Plättchenfunktion zu erwarten ist (134).

Bei den untersuchten Parametern der Plättchenfunktion im weiteren Sinne wurden bei der erreichten Gruppengröße meist keine Unterschiede zwischen KHE-Patienten und Normalpersonen gefunden, die Signifikanzniveau erreichten. Es bestand jedoch durchgehend

und konsistent ein gleichförmiger Trend im Gruppenvergleich: Das Verhalten von Blutungszeit, Plättchenzahl, Thromboxan-spiegeln, induzierter Aggregation und assoziierten Thromboxan-bildung auf mehrere Stimuli war stets in der Reihenfolge junges Kontrollkollektiv, älteres Kontrollkollektiv, Patientengruppe im Sinne einer zunehmenden Bereitschaft zur Bildung von Plättchenaggregaten aufzufassen.

Im Einzelnen:

Die längere Blutungszeit und niedrigeren systemischen Thromboxanspiegel trotz höherer Plättchenzahl bei den jüngeren Kontrollpersonen könnten als Ausdruck einer längeren Lebensdauer weniger irriter Plättchen interpretiert werden, wobei sicher ein intraindividuell nur semiquantitativ reproduzierbarer Parameter wie die einfache Blutungszeit mit Vorsicht zu werten ist. Die beiden älteren Kollektive N_2 und KHE unterschieden sich nur im Thromboxanspiegel und stimmten in Blutungszeit und Plättchenzahl bemerkenswert gut überein. Die Unterschiede in den Thromboxanspiegeln lassen sich also nicht über eine unterschiedliche Plättchenzahl, d.h. Größe des synthetisierenden Zellpools, erklären. Erhöhungen des peripheren Plasmathromboxans wurden nach akuten Episoden von Prinzmetal-Angina (86) und nach Tachykardie-Pacing induzierter Angina bei vorbestehender koronarer Herzkrankheit (87) berichtet, aber auch bei mehreren chronischen Formen der degenerativen Gefäßerkrankung (124). Verstärkte TXB_2 -Bildung der Plättchen in vitro wurde bei Hypercholesterolämie (147), Diabetes mellitus (84) und nach Cholesterin-Exposition normaler Plättchen (141) berichtet. Un auffällige 6-Keto-PGF_{1 α} -Spiegel bei KHE-Patienten (65) und Diabetikern (30) sprechen gegen eine unspezifisch erhöhte PG-Synthese bei diesen Zuständen.

Die deutlichsten Unterschiede in der Aggregation der untersuchten Kollektive fanden sich für die niedrigen Kollagen-Konzentrationen während für die assoziierte TXB_2 -Bildung keine Unterschiede evident wurden. Eine erhöhte Plättchenreaktivität auf Kollagen ist bei KHE-Patienten (125), transienten ischämischen Attacken (36), latentem und manifesten Diabetes (123) und Typ II Hyper-

lipidämie (19) beschrieben, und wegen der Exposition nativen Kollagens bei der Ruptur atheromatöser Plaques möglicherweise von pathogenetischem Interesse.

Weniger deutlich waren Unterschiede in der ADP-induzierten Aggregation zwischen den untersuchten Gruppen. Da durch ADP nur eine sehr geringe und variable TXB_2 -Bildung auszulösen ist, wurde auf ihre Bestimmung hier verzichtet. Ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede in der Plättchen-Empfindlichkeit auf ADP wurden bei KHE-Patienten (125) gefunden, wohl aber bei Patienten mit Hyperlipidämie II a (19), nach in-vitro-Inkubation normaler Plättchen mit Cholesterin (131), bei latentem und manifesten Diabetes (123, 80) und nach akuter cerebraler Ischämie (36). Für ADP wird außer einer Rolle als Verstärkermechanismus der Aggregation durch Freisetzung aus endogenen Pools aktivierter Plättchen auch eine mögliche Rolle als primärer Auslöser diskutiert: Erythrozyten setzen unter gestörten rheologischen Verhältnissen, wie sie etwa über einem rauen atheromatösen Plaque herrschen, ADP frei, das benachbarte Plättchen aktivieren könnte (11).

Bei der Arachidonsäure-induzierten Aggregation, die nur mit einer Überschußkonzentration untersucht wurde, war bei gleicher (vollständiger) Aggregation die assoziierte Thromboxan-Bildung in der Pat. Gruppe als indirektes Maß der Cyclooxygenase-Aktivität gesteigert. Ein gesteigerter Arachidonsäure-Umsatz ist von Cholesterin-exponierten normalen Plättchen (141) und Plättchen von Diabetikern berichtet, die auch sensitiver auf Arachidonsäure reagieren (54). Eine mögliche pathophysiologische Rolle verstärkten AS-Umsatzes wurde im Zusammenhang mit erhöhten Spiegeln freier Fettsäuren bei akutem Myocardinfarkt vorgeschlagen (47).

Die gefundenen Unterschiede in den diversen Parametern der Plättchenfunktion könnten im Prinzip Folge, zufällige Begleiterscheinungen ohne pathogenetische Bedeutung oder (Teil-)Ursache der Gefäßerkrankung sein. Außerdem erlauben die gefundenen eher diskreten Unterschiede natürlich keinerlei individuellen Aussagen, da die Streuung innerhalb der Gruppen nahezu in derselben

Größenordnung liegt wie die Gruppenunterschiede. Ferner könnten sehr wohl andere hier nicht untersuchte Parameter der Plättchenfunktion, etwa die Adhäsion oder die Sekretion Plättchenspezifischer Proteine aussagekräftiger sein (138). Dennoch sollte der gefundene konsistente Trend einer erhöhten Bereitschaft zur Bildung von Plättchenaggregaten auf mehrere biologische Stimuli in relativ realistischen Konzentrationen auch bei zurückhaltender Interpretation eine Wahl dieser Parameter als vorläufiges, a posteriori durch die klinische Effektivität zu bestätigendes therapeutisches Ziel, rechtfertigen.

II. Untersuchungen mit Aggregationshemmern

Die Kurzzeiteffekte dreier gebräuchlicher Antiplättchen-Therapien auf mehrere in vivo und ex vivo Parameter der Plättchenfunktion wurden an Gesunden im Vergleich mit sehr niedrig dosierter Azetylsalizylsäure (100 mg/d) untersucht. Für eine kritische Würdigung wurde bewußt der Testzeitpunkt der anzunehmenden geringsten Wirkung gewählt, am Morgen, bevor der Pat. gewöhnlich seine erste Medikation einzunehmen pflegt.

Bei unserer Versuchsanordnung war praktisch keine Wirkung von Dipyridamol auf die Plättchenzahl, Blutungszeit, Aggregation und Thromboxanbildung auf Kollagen, ADP und Arachidonsäure nachzuweisen, das periphere TXB_2 nahm auf D sogar zu. Das läßt sich weitgehend mit den gegenwärtigen Vorstellungen über die Wirkungsweise von D in Einklang bringen: Durch Hemmung der Phosphodiesterase könnte D den antiaggregatorischen Effekt von endogenen Substanzen wie Prostazyklin oder PGE_1 potenzieren, die wahrscheinlich über eine Anhebung der cAMP-Spiegel im Plättchen wirken (97, 143). Prostazyklin ist bei unserer ex vivo Aggregationstestung sicher schon weitgehend durch Spontanzerfall in das biologisch unwirksame 6-Keto-PGF_{1 α} inaktiviert und so könnten mögliche in vivo Effekte von D unentdeckt bleiben (102). Darüberhinaus wurde diese Vorstellung kürzlich in Frage gestellt (33), und als Wirkmechanismus von D die Hemmung der Aufnahme (10) oder des Abbaus (14) und damit der Inaktivierung des antiaggregatorischen Adenosins vermutet (27).

Ebenso war praktisch kein Effekt von Sulfinpyrazon auf die durch Arachidonsäure und höhere Konzentration von Kollagen induzierte Aggregation und TXB_2 -Bildung feststellbar. Dagegen waren sowohl die Aggregation als auch die Thromboxanbildung auf niedrige Konzentrationen von Kollagen signifikant erniedrigt und außerdem die mittlere Mindestkonzentration von ADP für die Auslösung der irreversiblen Aggregation erhöht. Das stimmt mit früheren Berichten über eine reversible Hemmung der Prostaglandin-Bildung durch S in verschiedenen Modellen überein (1). Die unveränderte TXB_2 -Bildung auf exogene Arachidonsäure macht es unwahrscheinlich, daß S an der Cyclooxygenase oder Thromboxan-Synthetase angreift

und spräche eher für eine Wirkung auf die Phospholipase A_2 , obwohl die komplexe Regulation der Cyclooxygenase nur unvollständig verstanden ist (81). Außer der bevorzugt auf Phosphatidyl-Ethanolamine und -Choline wirkenden Calcium-abhängigen Phospholipase A_2 ist aber noch ein weiterer Stoffwechselweg zur Freisetzung von Arachidonsäure nachgewiesen: Phospholipase C setzt bevorzugt aus Phosphatidyl-Inositol Diacylglyceride frei, aus denen entweder durch eine Diglycerid-Lipase direkt Arachidonsäure abgespalten wird, die aber auch durch eine Diglycerid-Kinase zu einer Phosphatidsäure verestert werden können (21). Auch ein intaktes Phosphatid (Alkyl-Azetil-Glyceryl-Phosphoryl-Cholin, 'Plättchen aktivierender Faktor', PAF), das z.B. auf Kollagen endogen freigesetzt wird und proaggregatorisch wirkt, könnte einem weiteren Mechanismus der Plättchenaggregation mit physiologischer und pharmakologischer Bedeutung zu Grunde liegen (148). So hemmt S in vitro die Aggregation auf den Plättchen-aktivierenden Faktor (PAF) (148) und die Hemmung der Adhäsion, Release-Reaktion und Epithelschutz (60) könnten ebenfalls zu den klinischen Effekten von S beitragen. Obwohl S innerhalb 4 Stunden nahezu vollständig aus der Blutbahn geklärt wird, wurden auch schon längerdauernde Effekte von S berichtet und bioaktiven Metaboliten zugeschrieben (115).

Im Gegensatz dazu waren sowohl nach niedrig dosierter Azetylsalizylsäure als auch nach ASS kombiniert mit D dramatische und fast identische Effekte festzustellen. Die praktisch vollständige Hemmung der Aggregation und TXB_2 -Bildung auf Arachidonsäure, die Aufhebung der irreversiblen Aggregation auf ADP und die nahezu vollständige Unterdrückung der Aggregation auf niedrige und der TXB_2 -Bildung auf alle Konzentrationen von Kollagen kann zwanglos aus der schon vollständigen und irreversiblen Inaktivierung der Cyclooxygenase durch sehr niedrige Konzentrationen von ASS erklärt werden (17).

Die erhöhten Plättchenzahlen, die bei den ASS-Medikationen zu beobachten waren, sind wohl eher auf einen erniedrigten Abbau, als auf eine erhöhte Bildung zu beziehen. Interessanter-

weise normalisierte jedoch ASS die verkürzte Plättchenlebensdauer bei verschiedenen pathologischen Zuständen nie so vollständig, wie dies durch D und S gesehen wurde (58), die beide in unserer Versuchsanordnung die Plättchenzahl nicht veränderten. Die verlängerte Blutungszeit nach ASS und ASS kombiniert mit D lag noch deutlich unter Werten, die in hämorrhagischen Plättchenfunktionsstörungen zu beobachten sind.

Überraschenderweise waren nach keinem der Therapieschemata die peripheren TXA_2 -Spiegel zu senken, nach D zeigte sich sogar ein geringer Anstieg. Bei der Probennahme, die wegen der hohen Irritabilität der Plättchen gerade bei der Thromboxan-Bestimmung kritisch ist, wurde mit größter Sorgfalt vorgegangen. Ein analytischer Fehler scheint weitgehend ausgeschlossen, da die entdeckten Mengen deutlich über der Nachweisgrenze lagen, der Antikörper hochspezifisch war, alle Plasmazusätze in vitro nicht den RIA störten und nach zusätzlicher Vorreinigung mit reversed-phase-HPLC in anderen Proben vergleichbare Spiegel gemessen wurden. Nachdem nach ASS und ASS kombiniert mit D die Plättchen in vitro sogar auf stärkste Stimuli nur mit einer minimalen TXB_2 -Bildung reagieren, scheint unter den sicher viel milderen in vivo Bedingungen ein thrombozytärer Ursprung der unveränderten Plasma- TXB_2 -Spiegel zumindest nach ASS sehr unwahrscheinlich. Da die Plasmahalbwertszeit von TXB_2 in der Größenordnung von 30 min liegt (138), muß es jedoch unter dieser Medikation entstanden sein. Eine TXA_2 -Synthese ist in der Tat auch für mehrere andere Gewebe, so Nierenglomeruli (127) und sogar Gefäßwände (53), nachgewiesen, für die - im Unterschied zu Thrombozyten- eine durch Protein-de-novo-Synthese rasche Erholung der Cyclooxygenaseaktivität nach irreversibler Inaktivierung des aktuellen Enzyms durch ASS vorstellbar ist (69). Es könnten aber auch zusätzlich endothelial gebildet cyclische Peroxide (PGG_2 und H_2) von der intakten Thromboxansynthetase der Plättchen weiterverarbeitet werden.

Die Korrelationen, die bei unserem Versuchsansatz gefunden wurden, weisen ebenfalls auf eine Rolle der TXA_2 -Bildung bei der ADP-induzierten irreversiblen Aggregation, der mit niedrigen Kollagen-Konzentrationen und natürlich der mit AS induzierten Aggregation hin und auf PG-unabhängige Mechanismen der reversiblen ADP-induzierten und der mit hohen Dosen Kollagen induzierten Aggregation.

Insgesamt war sehr niedrig dosierte Azetylsalizylsäure voll wirksam in der Unterdrückung der Plättchenaggregation, die höhere Dosierung war nicht wirksamer und könnte sehr wohl in Hinblick auf die gleichzeitige Beeinträchtigung der endothelialen PGI_2 -Synthese unerwünschte Nachteile tragen und die Kombination mit Dipyridamol bot keine offensichtlichen Vorteile. D und S als Einzelsubstanzen beeinflussten zumindest zu diesem Zeitpunkt nach Einnahme die Plättchenfunktion nur geringfügig. Es war nicht möglich die plasmatischen PGI_2 -Spiegel unter den verschiedenen Medikationen direkt zu beurteilen, da die Messung von PGI_2 im Plasma mit erheblichen methodischen Problemen belastet ist. Es scheint jedoch der Schluß gerechtfertigt, daß sehr niedrig dosierte ASS, solange selektive Inhibitoren der Thromboxan-Synthese für den klinischen Gebrauch nicht zur Verfügung stehen (101), eine attraktive Medikation für Interventionsstudien bei Zuständen wie koronarer Herzkrankheit darstellt, wo eine Hyperaggregabilität (46) und vermehrte TXA_2 -Bildung (87) eine wichtige Rolle spielen könnten.

Daneben versprechen das weitgehende Fehlen von Nebenwirkungen, die einmalige tägl. Gabe, die gleichmäßige Wirkung über den Tag und die fast hundertjährige Erfahrung mit wesentlich höheren chronischen Dosen eine bessere Therapiebefolgung, einfachere Handhabung, möglicherweise bessere Erfolge und sicherlich ein zuverlässiger abzuschätzendes minimales toxisches Risiko von sehr niedrig dosierter Azetylsalizylsäure.

Zusammenfassung

Etwa im letzten Jahrzehnt wurden zunehmend Substanzen, deren klinischer Nutzen von ihrer Beeinflussung der Thrombozytenfunktion erhofft wurde, weitverbreitet bei der Arteriosklerose und ihren Organkomplikationen eingesetzt. Obwohl eine pathogenetische Rolle der Thrombozyten bei diesen Krankheitsbildern nicht endgültig erwiesen ist, kann man sich bei der Wahl dieses therapeutischen Ansatzpunktes auf eine Fülle von Befunden berufen, die unabhängig voneinander auf eine Beteiligung der Thrombozyten sowohl an der chronischen Entstehung, wie auch an akuten Exazerbationen einer atherosklerotischen Gefäßerkrankung hinweisen: So wurden Abweichungen der Thrombozytenfunktion in verschiedenen Testsystemen bei praktisch allen Untergruppen der Arteriosklerose, aber auch bei allen gesicherten kardiovaskulären Risikofaktoren beschrieben. Neben autoptisch zu sichernden Lokalbefunden akut Verstorbener finden sich in Assoziation mit akuten klinischen Episoden einer Gefäßerkrankung auch systemisch humoral faßbare Hinweise auf eine Plättchenaktivierung. Ferner können sowohl Tiermodelle zur Induktion von Arteriosklerose-Äquivalenten als auch experimentell induzierte Infarkte durch spezifisch am Thrombozyten angreifende Substanzen günstig beeinflußt werden.

Als letztendlich entscheidendes Kriterium erbrachten jedoch zahlreiche kontrollierte klinische Studien über unterschiedliche Behandlungsregimes mit Plättchen-aktiven Substanzen an praktisch allen Untergruppen und in allen Verlaufsstadien einer atherosklerotischen Gefäßerkrankung variable und im Allgemeinen enttäuschende Resultate.

Mit der Entdeckung der Prostaglandin-ähnlichen, biologisch potenten aber sehr instabilen Hauptmetabolite der Arachidonsäure im Thrombozyten und in der Endothelzelle, proaggre-

torischem, vasokonstriktorischem Thromboxan A_2 und antiaggregatorischem, vasodilatatorischem Prostazyklin, wurde ein subtiles Gleichgewicht dieser antagonistischen Substanzen als biochemisches Substrat der Thromboresistenz intakten Endothels und seine Störung als Korrelat der Thrombogenität geschädigten Endothels vorgeschlagen.

Der Wirkmechanismus der Azetylsalizylsäure wurde als irreversible Inaktivierung durch Azetylierung am N-terminalen Ende der Cyclooxygenase, des zentralen Enzyms der Prostanoid-Synthese, aufgeklärt. Da nun Thrombozyten, die über keine Protein-de-novo-Synthese verfügen, schon durch einmalige Exposition mit niedrigen Azetylsalizylsäure-Spiegeln für ihre ganze Lebensdauer von circa 8 Tagen der Fähigkeit beraubt sind, Thromboxan zu bilden, Endothelzellen aber, die Cyclooxygenase resynthetisieren können, schnell wieder ihre Prostazyklin-Bildung aufnehmen, wurde eine seltene oder sehr viel niedrigere denn herkömmliche Azetylsalizylsäure Medikation vorgeschlagen, um diese kritische Gleichgewicht effektiv zu Gunsten von Prostazyklin zu verschieben. Die mäßigen klinischen Erfolge der herkömmlichen hochdosierten Therapie mit diesem Aggregationshemmer sollten dabei möglicherweise durch die gleichzeitige Unterdrückung der protektiven Prostazyklinsynthese mit bedingt sein.

Vor einer aufwendigen klinischen Testung sollte deshalb sehr niedrig dosierte Azetylsalizylsäure mit drei herkömmlichen Regimes von Aggregationshemmern in einem Kurzzeitversuch verglichen und das verwendete Testsystem der Thrombozytenfunktion an einem potentiellen Indikationskollektiv möglichst validisiert werden. Die Aggregation wurde in vitro mit Konzentrationsreihen dreier Stimuli, Kollagen, ADP und Arachidonsäure, mit möglicher Bedeutung für die in vivo Gerinnungsbildung ausgelöst und die assoziierte Thromboxan-Bildung gemessen.

Untersucht wurden Patienten mit invasiv gesicherter koronarer

Herzerkrankung (KHE), ein altersangepaßtes (N_2) und ein jüngeres Normalkollektiv (N_1). Bei den untersuchten Parametern der Thrombozytenfunktion wurden bei der erreichten Gruppengröße meist keine Unterschiede, die Signifikanzniveau erreicht hätten, zwischen KHE und N_2 gefunden. Es bestand jedoch durchgehend ein konsistenter Trend: Das Verhalten von Thromboxanspiegeln, induzierter Aggregation und assoziierter Thromboxan-Bildung auf mehrere Stimuli war stets in der Reihenfolge N_1 , N_2 , KHE im Sinne einer zunehmenden Bereitschaft zur Bildung von Plättchenaggregaten aufzufassen. Wegen dieser Konsistenz wurden die untersuchten Parameter als vorläufige therapeutische Kriterien akzeptiert.

Sodann wurden die Wirkungen dreier konventioneller Regimes, Dipyridamol 3×75 mg/d (D), Sulfinpyrazon 4×200 mg/d (S), Azetylsalizylsäure 3×330 mg/d kombiniert mit Dipyridamol 3×75 mg/d (ASS+D) und von sehr niedrig dosierter Azetylsalizylsäure 100 mg/d (ASS) auf die Plättchenfunktion bei Normalpersonen nach 4 tägiger Therapie untersucht. D und S erhöhten leicht die mittlere Minimalkonzentration von ADP zur Auslösung der irreversiblen Aggregation (n.s.), S reduzierte die Aggregation und Thromboxan(TXB_2)-Bildung auf niedrige Konzentrationen von Kollagen ($2p \leq 0,05$), ASS und ASS+D erhöhten die periphere Plättchenzahl ($2p \leq 0,05$), verlängerten die Blutungszeit (n.s. für ASS, $2p \leq 0,05$ für ASS+D), hoben die irreversible Aggregation auf ADP auf, unterdrückten die TXB_2 -Bildung auf alle ($2p \leq 0,001$) und die Aggregation auf niedrigere Konzentrationen von Kollagen ($2p \leq 0,01$) und hoben sowohl die Aggregation, wie die TXB_2 -Bildung auf Arachidonsäure auf ($2p \leq 0,001$). Sehr niedrig dosierte Azetylsalizylsäure unterdrückt effektiv die Aggregation und Thromboxan-Bildung auf mehrere Stimuli von potentieller physiologischer Bedeutung und sollte, da sie im Lichte einer kürz-

lich vorgeschlagenen kritischen Balance von vaskulärem
antiaagregatorischem Prostazyklin und thrombozytärem pro-
agregatorischem Thromboxan Vorteile bieten könnte gegen-
über konventionell dosierter Azetylsalizylsäure, in kli-
nischen Studien von thromboembolischen Erkrankungen unter-
sucht werden.

Literatur

- 1) Ali M., Mc Donald J.W.D., Effects of sulfinpyrazone on platelet prostaglandin synthesis and platelet release of serotonin, J. Lab. Clin. Med. 89, 868, 1977.
- 2) Anitschkow N.N.: Rückbildungsvorgänge bei der experimentellen Atherosklerose, Verh.Dtsch.Ges.Pathol. 23,473, 1928.
- 3) Anitschkow N., Chatalov S.: Über experimentelle Cholesterinsteatose und ihre Bedeutung für die Entstehung einiger pathologischer Prozesse, Zentralbl. Allg. Pathol., 24,1, 1924.
- 4) Aspirin Myocardial Infarction Study Research Group: A randomised controlled trial of aspirin in persons recovered from myocardial infarction, JAMA 243, 661, 1980.
- 5) Beaumont J.L., Caen J., Bernhard J.: Influence de l'acid acetyl salicylique dans les maladies hemorragiques, Sangre, 27, 243, 1956.
- 6) Benditt E.P., Benditt J.M.: Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. Proc. Nat. Acad. Sci.U.S.A. 70, 1753, 1973.
- 7) Bergström S., Ryhage R., Samuelson B., Sjövall J.: Structure of PG E₁, F₁, F₂, Acta Chem.Scand. 16, 501, 1962.
- 8) Bills T.K., Smith J.B., Silver M.J.: Selective release of arachidonic acid from the phospholipids of human platelets in response to thrombin, J.Clin. Invest. 60, 1, 1977.
- 9) Born G.V.R.: Aggregation of blood platelets by adenosin diphosphate and its reversal, Nature, 194, 927, 1962.
- 10) Born G.V.R., Mills D.C.B.: Potentiation of the inhibitory effect of adenosin on platelet aggregation by drugs that prevent its uptake, J. Physiol. (London) 202, 41, 1969.
- 11) Born G.V.R., Bergquist D., Arfors K.-E.: Evidence for inhibition of platelet activation by a drug effect on erythrocytes, Nature 259, 233, 1976.
- 12) Boston Collaborative Drug Surveillance Group: Regular aspirin intake and acute myocardial infarction, Br.Med.J. 1:440, 1974.

- 13) Bowie E.J.W., Fuster V., Owen C.A.Jr., e.a.: Resistance to the development of spontaneous atherosclerosis in pigs with von Willebrand's disease. 5th Congress of the International Society on Thrombosis and Hämostasis, Paris, July 1975 (abstr.).
- 14) Bunag R.D., Douglas C.R., Imai S., Berne R.M.: Influence of a pyrimidopyrimidine derivative on deamination of adenosin by blood, *Circ.Res.* 15, 83, 1964.
- 15) Bunting S., Gryglewski R.J., Moncada S., Vane J.R.: Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin X) with relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation, *Prostaglandins* 12, 897, 1976.
- 16) Bunting S., Moncada S., Vane J.R.: Antithrombotic properties of vascular endothelium. *Lancet* 2, 1075, 1977 (Brief).
- 17) Burch J.W., Stanford N., Majerus P.W.: Inhibition of platelet prostaglandin synthetase by oral aspirin, *J.Clin.Invest.* 61 314, 1978.
- 18) Callahan K.S., Campbell W.B., Johnson A.R.: Antiplatelet activity of propranolol: Interaction with PGI_2 and endothelial cells, *Fed. Proc.* 39, 392, 1980 (Abstr.).
- 19) Carvalho A.C.A., Colman R.W., Lees R.S.: Platelet function in hyperlipoproteinemia, *N. Engl. J.Med.* 290, 434, 1974.
- 20) Charo I.F., Feinman R.D., Detwiler T.C., Interrelations of platelet aggregation and secretion, *J.Clin. Invest.* 60, 866 1977.
- 21) Charo I.F., Feinman R.D., Detwiler T.C., Smith J.B., Ingerm C.M., Silver M.J.: Prostaglandin endoperoxides and thromboxane A_2 can induce platelet aggregation in the absence of secretion. *Nature* 269, 66, 1977.
- 22) Cobb S., Anderson F., Bauer W.: Length of life and cause of death in rheumatoid arthritis, *N.Engl.J.Med.* 249,553, 1953.
- 23) Committee of Principle Investigators: A cooperative trial in the primary prevention of ischemic heart disease using clofibrate, *Br.Heart J.*, 40, 1069, 1978.

- 24) Constantinides P.: Plaque fissures in human coronary thrombosis, *J.Atheroscl. Res.* 6, 1, 1966.
- 25) Cooper D. R., Lewis G.P., Lieberman G.E., Webb H., Westwick J.: ADP metabolism in vascular tissue, a possible thromboregulatory mechanism. *Thromb. Res.* 14, 901, 1979.
- 26) Craven L.L.: Experiences with aspirin (acetylsalicylic acid) in the non-specific prophylaxis of coronary thrombosis, *Miss.Valley Med.J.* 75, 38, 1953.
- 27) Crutchley D.J., Ryan U.S., Ryan J.W.: Effects of aspirin and dipyridamole on the degradation of adenosin diphosphate by cultured cells derived from bovine pulmonary artery, *J.Clin.Invest.* 66, 29, 1980.
- 28) Curwein E.D., Gimbrone M.A., Handin R.I.: In vitro studies of thromboresistance: The role of prostacyclin in platelet adhesion to cultured normal and virally transformed human vascular endothelial cells, *Lab. Invest.* 42, 366, 1980.
- 29) Czervionke R.L., Smith J.B., Fry G.L., Hoak J.C., Haycraft D.L.: Inhibition of prostacyclin by treatment of endothelium with aspirin, *J.Clin. Invest.* 63, 1089, 1979.
- 30) Davis T.M.E., Mitchell M.D., Turner R.C.: Prostacyclin and thromboxane metabolites in diabetes, *Lancet* 2, 789, 1979, (Brief).
- 31) Dawson W., Bott, J.R., Cockerill A.F., Mallen D.N.B., Osborne D.K.: Release of novel prostaglandins and thromboxanes after immunological challenge of guinea pig lung, *Nature*, 262, 699, 1976.
- 32) Dayton S., Pearce M.L., Hashimoto S., Dixon W.J., Tomiyasu U.: A controlled clinical trial of a diet rich in unsaturated fat in preventing complications of atherosclerosis, *Circ.* 40 (Suppl.2), 63, 1969.
- 33) Dembinska-Kiec A., Rücker W., Schönhöfer P.S.: Effects of dipyridamole in experimental atherosclerosis, *Atherosclerosis* 33, 315, 1979.

- 34) Denham M.J., Fisher M., James G., e.a.: Thromboglobulin and heparin neutralizing activity test in clinical conditions, *Lancet* 1:1154, 1977.
- 35) Doll R., Peto R.: Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors, *Br.Med. J.* II, 1525-36, 1976.
- 36) Dougherty J.H., Lewy D.E., Wexler B.B.: Platelet activation in acute cerebral ischemia, *Lancet* 1, 821, 1977.
- 37) Duguid J.B.: Pathogenesis of atherosclerosis, *Lancet* 2, 925, 1949.
- 38) Elwood P.C. Cochrane A.L., Burr M.L., Sweetman P.M., Welsby W.G., Hughes S.J. Renton R.: A randomised controlled trial of acetylsalicylic acid in the secondary prevention of mortality from myocardial infarction, *Br. Med. J.* 1, 436, 1974.
- 39) v. Euler U.S.: Über die spezifisch blutdrucksenkende Substanz des menschlichen Prostata- und Samenblasen-Sekrets, *Kli.Wo.* 33, 1182, 1935.
- 40) Feinberg H. Sandler W.C., Scoren M., Le Breton, G.C., Grossman B., Born G.V.R.: Movement of sodium into human platelets induced by ADP, *Biochem. Biophys. Acta* 470, 317, 1977.
- 41) Flower R.J., Blackwell G.J.: The importance of phospholipase - A_2 in prostaglandin biosynthesis, *Biochem. Pharmacol.* 25, 285, 1976.
- 42) Folts J.D., Crowell E.B., Rowe L.L.: Platelet aggregation in partially obstructed vessels and its elimination with aspirin, *Circ.* 54, 365, 1976.
- 43) Friedmann R.J., Stemerman M.B., Wenz B., e.a.: The effect of thrombocytopenia on experimental arteriosclerotic lesion formation in rabbits, *J. Clin. Invest.* 60, 1191, 1977.
- 44) Gorman R.R., Bundy G.L., Peterson D.C., Sun F.F., Miller O.V. Fitzpatrick F.A.: Inhibition of human platelet thromboxane synthetase by 9,11-azoprostano-5,13-dienoic acid, *Proc.Natl. Acad.Sci.U.S.A.*, 74, 4007, 1977.

- 45) Gormann R.R., Bunting S.S., Miller G.V.: Modulation of human platelet adenylate cyclase by prostacyclin (PGX), Prostaglandins, 13, 377, 1977.
- 46) Green L.H., Seropjian E., Handin R.J.: Platelet activation during exercise-induced myocardial ischemia, N.Engl.J.Med. 302, 193, 1980.
- 47) Gupta D.K., Young R., Jewitt D.E., Harbog M., Opie L.H.: Increased plasma free fatty acid concentrations and their significance in patients with acute myocardial infarction, Lancet 2, 1209, 1969.
- 48) Haerem J.W.: Sudden coronary death: the occurrence of platelet aggregates in the epicardial arteries of man, Atherosclerosis 14, 417, 1971.
- 49) Haerem J.W.: Mural platelet microthrombi and major acute lesions of main epicardial arteries in sudden coronary death, Atherosclerosis, 19, 529, 1974.
- 50) Haft J.I., Gershengorn K., Kranz P.D., Oestreicher R.: Protection against epinephrine-induced myocardial necrosis by drugs that inhibit platelet aggregation, Am.J. Cardiol. 30, 838, 1972.
- 51) Haft J.I., Kranz P.D., Albert F.J., Fani K: Intravascular platelet aggregation in the heart induced by norepinephrine, Circ. 46, 698, 1972.
- 52) Haft J.I., Fani K.: Intravascular platelet aggregation in the heart induced by stress, Circ. 47, 353, 1973.
- 53) Hagen A.A., White R.P., Robertson J.T.: Synthesis of prostaglandins and thromboxanes by cerebral arteries, Stroke 10, 306, 1979.
- 54) Halushka P.V., Lurie D., Colwell J.A.: Increased Synthesis of prostaglandin-E-like material by platelets from patients with diabetes mellitus, N.Engl.J.Med. 297, 1306, 1977.
- 55) Hamberg M., Samuelsson B.: Detection and isolation of an endoperoxide intermediate in prostaglandin biosynthesis, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 70, 899, 1973.

- 56) Hamberg M., Svenson J., Samuelson B.: Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 2994, 1975.
- 57) Handin R.I., Mc Donough M., Lesch M.: Elevation of platelet factor four in acute myocardial infarction, *J.Lab. Clin. Med.* 91, 340, 1978.
- 58) Harker L.A., Slichter S.J.: Platelet and fibrinogen consumption in man, *N.Engl.J.Med.* 287, 999, 1972.
- 59) Harker L.A., Ross R., Slichter S., e.a.: Homocysteine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis, *J.Clin. Invest.* 58, 731, 1976.
- 60) Harker L.A., Ross R.: Verhütung der homozystein-induzierten Arteriosklerose: Endothelschutz durch Sulfinpyrazon, in: *Ein neuer Weg zur Eindämmung des Herztodes*, Herausg. T. Abe, S. Sherry (Huber, Bern/Stuttgart/Wien, 1979).
- 61) Harter H.R., Burch J.W., Majerus P.W., Stanford W., Delmez J.A., Anderson C.B., Weerts C.A.: Prevention of thrombosis in patients on hemodialysis by low-dose aspirin, *N.Engl. J.Med.* 301, 577, 1979.
- 62) Heyps A. du P., van den Berg D.J., Potgieter G.M., Retief F.P.: The inhibition of platelet aggregation by an aorta intimal extract, *Thromb.Diath. Haemorrh.* 32, 417, 1974.
- 63) Higgs G.A., Moncada S., Vane J.R.: Prostacyclin (PGI_2) inhibits the formation of platelet thrombi induced by adenosine diphosphate (ADP) in vivo, *Br.J.Parmacol.* 61, 137P, 1977.
- 64) Hilden T., Iversen K., Raaschou F., e.a.: Anticoagulants in acute myocardial infarction, *Lancet* 2, 327, 1961.
- 65) Hirsh P.D., Hillis L.D., Campbell W.B., Firth B.G., Willerson J.T.: Release of prostaglandins and thromboxane into the coronary circulation in patients with ischemic heart disease, *N.Engl. J.Med.* 304, 685, 1981.

- 66) Huttner J.J., Gwebu E.G., Panganamak R.V., Milo G.E., Cornwell D.G., Shapna H.M., Geer J.C.: Fatty acids and their prostaglandin derivatives: inhibition of proliferation in aortic smooth muscle cells, *Science* 197, 289, 1977.
- 67) Hypertension Detection and Follow-up Programm Cooperative Group.: Five-year findings of the hypertension detection and follow-up programm, *JAMA* 242, 2562, 1979.
- 68) Ignatowski A.: Über die Wirkung des tierischen Eiweisses auf die Aorta und die parenchymatösen Organe der Kaninchen, *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, 198, 1909.
- 69) Jaffe E.A., Waksler B.B.: Recovery of endothelial cell prostacyclin production after inhibition by low doses of aspirin, *J.Clin. Invest.* 63, 532, 1979.
- 70) Jakobs K.H.: Synthetic alpha-adrenergic agonists are potent alpha-adrenergic blockers in human platelets, *Nature* 274, 819, 1978.
- 71) Johnson A.R., Campbell W.B.: Antiplatelet activity of propranolol: inhibition of thromboxane synthetase, *Fed. Proc.* 39, 392, 1980 (Abstr.).
- 72) Jorgensen L., Rowsell H.C., Hovig T., Glynn M.F., Mustard J.F.: Adenosine diphosphate induced platelet aggregation and myocardial infarction in swine, *Lab. Invest.* 17, 616, 1967.
- 73) Kannel W.B., Castelli W.P., Gordon T., Mc Namara P.M.: Serum cholesterol, lipoproteins and the risk of coronary heart disease, The Framingham Study, *Ann. Intern. Med.* 74, 1, 1971.
- 74) Kannel W.B., Dawber T.R., Friedman G.D.e.a.: Risk factors in coronary heart disease, *Ann. Intern. Med.* 61, 888, 1964.
- 74a) Kelton J.G., Mirsh J., Carter C.J., Buchanan M.R.: Thrombogenic effect of high-dose aspirin in rabbits, *J. Clin. Invest.* 62, 892, 1978.

- 75) Keys A., Aravanis C., Blackburn H., van Buchem E.S.P., Buzina R., e.a.: Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40-49 in seven countries, *Acta Med. Scand. suppl.* 1,460, 1966.
- 76) Kinlough - Rathboue R.L., Chahil A., Rackham M.A., Reimers H.J. Mustard J.F.: Effect of ionophore A 23 187 on thrombin degranulated washed rabbit platelets, *Thromb. Res.* 7, 435, 1975.
- 77) Kinlough - Rathboue R.L., Reimers H.J., Mustard J.F.: Sodium arachidonate can induce platelet shape change and aggregation which are independent of the release reaction, *Science* 192, 1011, 1976.
- 78) Kitchens C.A., Weiss L.: Ultrastructural changes of endothelium associated with thrombocytopenia, *Blood* 46, 567-78, 1975.
- 79) Korbut R., Moncada S.: Prostacyclin and thromboxane A₂ interaction in vivo, regulation by aspirin and relationship with antithrombotic therapy, *Thromb. Res.* 13, 489, 1978.
- 80) Kwaan H.C., Colwell J.A., Cruz S., Suwanwela N., Dobbie J.G.: Increased platelet aggregation in diabetes mellitus, *J.Lab. Clin. Med.* 80, 236, 1972.
- 81) Lapetina E.G., Cuatrecasas P.: Rapid inactivation of cyclooxygenase activity after stimulation of intact platelets, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 121, 1979.
- 82) Lapetina E.G., Cuatrecasas P.: Stimulation of phosphatidic acid production in platelets precedes the formation of arachidonate and parallels the release of serotonin, *Biochem. Biophys. Acta* 573, 394, 1979.
- 83) Leary R.: The genesis of atherosclerosis, *Arch. Pathol.* 32, 507, 1941.
- 84) Lagarde M., Burtin M., Barcieud P., Blanc M., Velardo B., Dechavanne M.: Increase of platelet thromboxane A₂ formation and of its plasmatic half-life in diabetes mellitus. *Thromb. Res.* 19, 823, 1980.

- 85) Levin R.K., Jaffe E.A., Weksler B.B., Tack-Goldman K.: Nitroglycerin stimulates synthesis of prostacyclin by cultured human endothelial cells, J.Clin. Invest. 67, 762, 1981.
- 86) Lewy R.I., Smith J.B., Silver M.J., Seia J., Walinsky R., Wiener L.: Detection of thromboxane B₂ in peripheral blood of patients with Prinzmetal's angina, Prost. Med. 5: 243, 1979.
- 87) Lewy R.I., Wiener L., Walinsky P., Lefer A.M., Silver M.J., Smith J.B.: Thromboxane release during pacing-induced angina pectoris: possible vasoconstrictor influence on the coronary vasculature, Circ. 61, 1165, 1980.
- 88) Lijnen P.J., Amery A.K., Fagard R.H., Reybrouck T.M., Moerman E.J., De Schaepestryver A.F.: The effects of β -adrenoceptor blockade on renin, angiotensin, aldosterone and catecholamines at rest and during exercise, Br.J. Clin. Pharmac. 7, 175, 1979.
- 89) Majerus P.W.: Why aspirin? , Circulation 54, 357, 1976.
- 90) Malmsten C., Grauström E., Samuelsson B.: Cyclic AMP inhibits synthesis of prostaglandin endoperoxide (PGG₂) in human platelets, Biochem. Biophys. Res. Commun. 68, 569, 1976.
- 91) Marchand F.: Über Arteriosklerose, Verh. Kongr. Inn. Med. 21, 23, 1904.
- 92) Martin G.M., Sprague C.A.: Symposium on in vitro studies related to atherogenesis: life histories of hyperplastoid cell lines from aorta and skin, Exp. Mol. Pathol. 18, 125, 1973.
- 93) Maseri A., L'Abbate A., Beroldi G., e.a.: Coronary vasospasms a possible cause of myocardial infarction: a conclusion derived from the study of "preinfarction" angina, N.Engl.J.Med. 299, 1271, 1978.

- 94) Miettinen M., Turpeinen O., Karvonen M.J., Elosuo R., Paavilainen E.: Effect of cholesterol-lowering diet on mortality from coronary heart disease and other causes-a twelve-year clinical trial in men and women, *Lancet* 2, 835, 1972.
- 95) Miller O.V., Johnson R.A., Gorman R.R.: Inhibition of PGE₁-stimulated cAMP accumulation in human platelets by thromboxane A₂, *Prostaglandins* 13, 599, 1977.
- 96) Miller N.E., Førde O.H., Thelle D.S., Mjøs O.D: High-density lipoprotein and coronary heart-disease: a prospective case-control study, *Lancet* 1, 965, 1977.
- 97) Mills P.C.B., Shmith J.B.: The influence on platelet aggregation of drugs that affect the accumulation of adenosin 3',5'-cyclomonophosphate in platelets, *Biochem. J.* 121, 185, 1973.
- 98) Minkes M., Stanford N., Chi M., Roth G.J., Raz A., Needleman P., Majerus P.W.: Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate inhibits the availability of arachidonate to prostaglandin synthetase in human platelet suspensions, *J.Clin.Invest.* 59, 449, 1977.
- 99) Moncada S., Gryglewski R., Bunting S., Vane J.R.: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation, *Nature* 263, 663, 1976.
- 100) Moncada S., Gryglewski R., Bunting S., Vane J.R.: A lipid peroxide inhibits the enzyme in blood vessel microsomes that generates from prostaglandin endoperoxides the substance (prostaglandin X) which prevents platelet aggregation, *Prostaglandins* 12, 715, 1976.
- 101) Moncada S., Bunting S., Mullane K., Thorogood P., Vane J. R., Raz A., Needleman P.: Imidazole: a selective inhibitor of thromboxane synthetase, *Prostaglandins* 13, 611, 1977.

- 102) Moncada S., Korbust R.: Dipyridamole and other phosphodiesterase inhibitors act as antithrombotic agents by potentiating endogenous prostacyclin, *Lancet* 1, 1286, 1978.
- 103) Moncada S., Vane J.R.: Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in hemostasis and thrombosis, *Br. Med. Bull.* 34, 129, 1978.
- 104) Moore S., Friedman R.J., Singal D.P.: Inhibition of injury induced thromboatherosclerotic lesions by antiplatelet serum in rabbits, *Thromb. Haemostas.* 35, 70, 1976.
- 105) Morooka S., Kobayashi M., Shimamoto T.: Experimental ischemic heart disease induced by thromboxane A_2 in rabbits, *Jap. Circ. J.* 41, 1373, 1977.
- 106) Moschos C.B., Lahiri K., Lyons M., Weiss A.B., Oldewurtel H.A., Regan T.J.: Relation of microcirculatory thrombosis to thrombus in the proximal coronary artery; effect of aspirin, dipyridamole and thrombolysis, *Am. Heart J.* 86, 61, 1973.
- 107) Mustard J.F., Packham M.A., Rousell H.C.: The role of thrombogenic factors in atherosclerosis, *Ann. NY. Acad. Sci.* 149, 848, 1968.
- 108) Needleman P., Moncada S., Bunting S., Vane J.R., Hamberg M., Samuelsson B.: Identification of an enzyme in platelet microsomes which generates thromboxane A_2 from prostaglandin endoperoxides, *Nature*, 261, 558, 1976.
- 109) O'Brien J.R.: A comparison of platelet aggregation produced by seven compounds and a comparison of their inhibitors, *J. Clin. Path.* 17, 275, 1964.
- 110) O'Brien J.R.: Effects of salicylates on human platelets, *Lancet* 1, 779, 1968.
- 111) O'Grady J., Moncada S.: Aspirin: A paradoxical effect on bleeding time, *Lancet* 4, 780, 1978 (Brief).

- 112) Packham M.A., Cuccione M.A., Greenberg J.P., Kinlough-Rathbone R.L., Mustard J.F.: Release of 14 C-serotonin during initial platelet changes induced by thrombin collagen or A 23187, *Blood* 50, 915, 1977.
- 113) Pantely G.A., Scott H.G., Rahmtoola S.H., Harlan B.J., De Mott H., Calvin L., Rösch J.: Failure of antiplatelet and anticoagulant therapy to improve patency of grafts after coronary artery by-pass, *N.Engl. J.Med.* 301, 962, 1979.
- 114) Paterson J.C.: Capillary rupture with intimal hemorrhage as a causative factor in coronary thrombosis, *Arch. Pathol.* 25, 474, 1938.
- 115) Pedersen A.K., Jakobson P.: Two new metabolites of sulfinpyrazone in the rabbit: a possible cause of the prolonged in vivo effect, *Thromb. Res.* 16, 871, 1979.
- 116) Peuler J.D., Johnson G.A.: Simultaneous single isotope radioenzymatic assay of plasma norepinephrine, epinephrine dopamine, *Life Sci.* 21, 625, 1977.
- 117) Read R.C., Murphy M.L., Hultgren H.N., Takaro T.: Survival of men treated for chronic stable angina pectoris, *J.Thoracic Cardioasc. Surg.* 75, 1, 1978.
- 118) Roberts W.C.: Coronary arteries in fatal acute myocardial infarction, *Circ.* 45, 215, 1972.
- 119) Von Rokitsansky C.F.: A manual of pathological anatomy, Vol. 4, London, Sydenham Society, S. 261-272, 1852.
- 120) Ross R., Glomset J., Kariya S., Harker L.: A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro, *Proc.Natl. Acadl Sci.U.S.A.* 71, 1207, 1974.
- 121) Ross R., Glomset J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis *I.N.Engl.I.Med.* 295, 369, 1976.
- 122) Roth G.J., Stanford N., Majerus P.W.: Acetylation of prostaglandin synthetase by aspirin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 3073, 1975.

- 123) Sagel J., Colwell J.A., Crook L., Laimins M.: Increased platelet aggregation in early diabetes mellitus, *Ann.Int. Med.* 82, 733, 1975.
- 124) Sakanishi N., Koh H., Kishi Y., Omori K. e.a.: Plasma Thromboxane B₂ concentration in healthy japanese and in patients with atherosclerosis, *Circ.* 59 + 60 Suppl. II, II - 246, 1980.
- 125) Salky N., Dugdale M.: Platelet abnormalities in ischemic heart disease, *Am.J.Card.* 32, 612, 1973.
- 126) Schafer A.I., Alexander R.W., Handin R.I.: Inhibition of platelet function by organic nitrate vasodilators, *Blood* 55, 649, 1980.
- 127) Schlondorff D., Roczniak S., Satriano J.A., Folkert V.W.: Prostaglandin synthesis by isolated rat glomeruli: effect of angiotensin II, *Am.J. Physiol.* 238 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 8), F 486, 1980.
- 128) Schrör K., Smith E.F., Bickerton M., Smith J.B., Nicolaou K.C., Magolda R., Lefer A.M.: Preservation of ischemic myocardium by pinane thromboxane A₂, *Am. J.Physiol.* 238, (Heart Circ.Physiol. 7), H 87-92, 1980.
- 129) Schwartz L., Sole M.J., Kaughan-Neil E.F., Hussain N.M.: Catecholamines in coronary sinus and peripheral plasma during pacing-induced angina in man, *Circ.* 59, 37, 1979.
- 130) Shattil S.J., Bennet J.S.: Platelets and their membranes in hemostasis: physiology and pathophysiology, *Ann. Int. Med.* 94, 108, 1981.
- 131) Shattil S.J., Anaya-Galindo R., Bennet J., Colman R.W., Cooper R.A: Platelet hypersensitivity induced by cholesterol incorporation, *J.Clin.Invest.* 55, 636, 1975.
- 132) Siess W., Roth P., Weber P.C.: Stimulated platelet aggregation, thromboxane B₂ formation and platelet sensitivity to prostacyclin - A critical evaluation, *Thrombosis u. Hemostasis, im Druck*, 1981.

- 133) Siess W., Roth R., Lorenz R., Weber P.C.: Effects of propranolol in vitro and in vivo on thromboxane formation, sensitivity to prostacyclin and aggregation of human platelets, zur Publikation eingereicht, 1981.
- 134) Siess W., Roth P., Lorenz R., Weber P.C.: Plasma catecholamines, platelet aggregation and associated thromboxane formation following physical exercise smoking and infusion of norepinephrine, zur Publikation eingereicht, 1981.
- 135) Smith J.B., Willis A.L.: Formation and release of prostaglandins by platelets in response to thrombin, Br.J. Pharmacol. 40, 545, 1970.
- 136) Smith J.B., Willis A.L.: Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets, Nature New Biology 231, 235, 1971.
- 137) Smith J.B., Silver M.H., Ingberman C.M., Kocsis J.J.: Prostaglandin D₂ inhibits the aggregation of human platelets, Thromb.Res. 5, 291, 1974.
- 138) Sobel M., Salzman E.W., Davies G.C., Handin R.I., Sweeney J., Ploetz J., Kurland G.: Circulating platelet products in unstable angina pectoris, Circ. 63, 300, 1981.
- 139) Soloff L.A., Wiedeman M.P.: Biomicroscopic observations on vasoconstrictive and thrombogenic effects produced by long-chain saturated fatty acids within the vasculature of the wing of an unanaesthetized bat, Nature 199, 495, 1963.
- 140) Spaet T.H., Stemerman M.B., Veith F.J.: Intimal injury and regrowth in the rabbit aorta: medial smooth muscle cells as a source of neointima, Circ. Res. 36, 58, 1975.
- 141) Stuart M.J., Gerrard J.M., White J.G.: Effect of cholesterol on production of thromboxane A₂ by platelets in vitro, N.Engl.J.Med. 302, 6, 1980.

- 142) Sullivan J.M., Harker D.E., Gorlin R.: Pharmacologic control of thromboembolic complications of cardiac valve replacement, N.Engl.J.Med. 284, 1391, 1971.
- 143) Tateson J.E., Moncada S., Vane J.R.: Effects of prostacyclin on cyclic AMP concentration in human platelets, Prostaglandins 13, 389, 1977.
- 144) Texon M.: The hemodynamic basis of atherosclerosis: further observations: the ostial lesion, Bull. N.Y. Acad. Med. 48, 733, 1972.
- 145) The Anturane Reinfarction Trial Research Group: Sulfinpyrazone in the prevention of sudden death after myocardial infarction, N.Engl.J.Med. 302, 250, 1980.
- 146) The Canadian Cooperative Study Group: A randomised trial of aspirin and sulfinpyrazone in threatening stroke, N. Engl.J.Med. 299, 53, 1978.
- 147) Tremoli E., Folco G., Agradi E., Galli C.: Platelet thromboxanes and serum cholesterol, Lancet I, 107, 1979, (Brief).
- 148) Vargaftig B.B., Chignard M., Benveniste J.: Present concepts on the mechanisms of platelet aggregation, Biochem.Pharm. 30, 263, 1981.
- 149) Veterans Administration Cooperative Study Group on Antihypertensive Agents: Effects of treatment on morbidity in hypertension - results in patients with diastolic blood pressures averaging 115 through 129 mm Hg, JAMA 202, 1028, 1967.
- 150) Virchow R.: Phlogose und Thrombose im Gefäßsystem, Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin, S. 458, Frankfurt am Main, Meidinger Sohn und Company, 1856.
- 151) Virchow R.: "Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin", S. 458, 500, 521, G.Grote, Hamm, 1862.

- 152) Vogel J.: The Pathological Anatomy of the Human Body, S. 530, 1st ed. Philadelphia, Lea and Blanchard, 1847.
- 153) Weiss M.J., Aledort L.M., Kochwa S.: The effect of salicylates on the hemostatic properties of platelets in man, J.Clin.Inverst. 47, 2169, 1967.
- 154) Wexler B.B., Gillick M., Pink J.: Effect of propranolol on platelet function, Blood 49, 185, 1977.
- 155) White J.G., Gerrard J.M.: Platelet morphology and the ultrastructure of regulatory mechanisms involved in platelet activation, in: Platelets a Multidisciplinary Approach, Raven Press, New York 1978.
- 156) Wilhelmsson C., Vedin J.A., Wilhelmsson L., Tibblin G., Werkö L.: Reduction of sudden deaths after myocardial infarction by treatment with alprenolol, Lancet 2, 1157, 1974.
- 157) World Health Organization: Classification of Atherosclerotic Lesions Report, World Health Organization Technical Report Series, No. 143, Geneva 1958.
- 158) "World Health Statistics Annual, 1967", Vol. 1, "Vital Statistics and Causes of Death", World Health Organization, Geneva 1970.
- 159) Wu K.K., Hoak J.C.: A new method for the quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency, Lancet 2:924, 1974.

Mein aufrichtiger Dank gilt in besonderer Weise Herrn Prof. Buchborn für die gebotene Gelegenheit an seiner Klinik in anregender und angenehmer Atmosphäre zu arbeiten, Herrn Prof. Weber für die Überlassung des Themas, vielfältige, stets bereitwillig gewährte Unterstützung und zahlreiche stimulierende Hinweise und Frau Böhlig für stets ebenso exaktes wie rasches Arbeiten.

Lebenslauf

- 1951 geboren in Landsberg/Lech als 2. Kind von Wendelin und Elisabeth Lorenz
- 1958 Besuch der Volksschule und
- 1962 des Dominikus-Zimmermann-Gymnasiums in Landsberg
- 1970 Reifeprüfung, Aufnahme in die Stiftung Maximilianeum
Wehrdienst in der Luftwaffe
- 1971 Studium der Mathematik und Physik an der TU München
- 1972 Studium der Medizin an der Universität München und
- 1976 an der Oxford University Medical School
- 1978 Approbation, Weiterbildung in Innerer Medizin an der
Med. Poliklinik und
- 1979 der Med. Klinik Innenstadt der Universität München

